JOÃO EDUARDO MIRANDA FRANCO

**Influência da terapia fotodinâmica na manutenção da crista óssea alveolar
periimplantar**

São Paulo

2014

JOÃO EDUARDO MIRANDA FRANCO

**Influência da terapia fotodinâmica na manutenção da crista óssea alveolar
periimplantar**

Versão Original

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, para obter o título de Doutor, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas.

Área de Concentração: Prótese Dentária

Orientadora: Profa. Dra. Tomie Toyota de Campos

São Paulo

2014

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo da Publicação
Serviço de Documentação Odontológica
Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Franco, João Eduardo Miranda.

Influência da terapia fotodinâmica da crista óssea alveolar periimplantar / João Eduardo Miranda Franco; orientadora Tomie Toyota de Campos -- São Paulo, 2014.

88 p. : fig., tab., graf. ; 30 cm.

Tese (Doutorado) -- Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas. Área de Concentração: Prótese Dentária. -- Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

Versão original.

1. Implante dentário endoósseo. 2. Microbiologia oral. 3. Terapia fotodinâmica. 4. Reabsorção óssea alveolar. 5. Radiografia dentária digital. I. Campos, Tomie Toyota de. II. Título.

Franco JEM. Influência da terapia fotodinâmica na manutenção da crista óssea alveolar periimplantar. Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências Odontológicas.

Aprovado em: / /2014

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a). _____
Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a). _____
Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a). _____
Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a). _____
Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a). _____
Instituição: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, **Milton e Carmen**, que sempre me mostraram a importância da educação para atingir todos os objetivos na vida, principalmente minha mãe que não deixava passar nenhuma tarefa mal feita.

A minha esposa **Andréa Iguma**, que esteve comigo em todas as fases difíceis e tensas pelas quais passei, com companheirismo, paciência e principalmente amor.

Aos meus filhos **Enzo e Igor** por me mostrar a verdadeira importância da vida.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À minha orientadora, **Profa. Dra. Tomie Toyota de Campos**, por acreditar no meu projeto, sempre me incentivando e orientando nas dificuldades do Doutorado. Um exemplo de pessoa e profissional na condução das descobertas e barreiras vencidas durante esta jornada.

Ao **Prof. Dr. Luiz Antonio Pugliesi A. de Lima** que enriqueceu meu projeto inicial com seu conhecimento científico, tornando-o muito mais rico e completo.

A **Profa. Dra. Silvana Cai**, que abriu as portas de seu laboratório e de seus conhecimentos sobre microbiologia permitindo a execução deste projeto.

A **Profa. Dra. Alyne Simões**, pelos ensinamentos sobre terapia fotodinâmica, um mundo novo cheio de descobertas.

A **Profa. Dra. Marlene Fenyo Soeiro de Matos Pereira**, pela pronta disposição e contribuição com seus conhecimentos sobre Radiologia.

AGRADECIMENTOS

À Universidade de São Paulo, representada pelo Magnífico Reitor Prof. Dr. Marco Antonio Zago. À Faculdade de Odontologia, representada pelo seu diretor, Prof. Dr. Waldyr Antonio Jorge.

Ao Prof. Dr. Atlas Edson Moleros Nakamae, responsável pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas, com área de concentração em Prótese Dentária, pela dedicação e incentivo a pesquisa.

À FAPESP pelo auxílio pesquisa (processo 2009/51317-9), fundamentais para a realização deste trabalho.

A todos os docentes do Departamento de Prótese, Dalva Cruz Laganá, Carlos Gil, Maria Luiza Moreira Arantes Frigerio, Matsuyoshi Mori, Pedro Tortamano Neto, Regina Tamaki, Bruno Costa, Newton Sesma, Roberto Chaib Stegun, pelos ensinamentos transmitidos.

Aos colegas da Pós-Graduação do Departamento de Prótese: Karin, Mônica, Álvaro, Cláudio, Danilo, Márcio, Érico, Marcelo, Piero, Isabele, Mara, Thiago, que tornaram a pós-graduação mais leve e divertida.

A todos os funcionários do Departamento de Prótese, as secretárias, Sandra, Marlete, Coraci e Regina. Aos técnicos do laboratório, Zeza, Cristina, Luís.

Aos funcionários da Biblioteca da FOUSP, com quem tive grande contato em todos esses anos na minha busca pelo conhecimento.

Aos pacientes voluntários que sempre colaboraram com a pesquisa.

MUITO OBRIGADO!

*"Tudo tem seu tempo e até certas manifestações mais
vigorosas e originais entram em voga ou saem de moda.*

Mas a sabedoria tem uma vantagem: é eterna."

(Baltasar Gracián)

RESUMO

Franco JEM. Influência da terapia fotodinâmica na manutenção da crista óssea alveolar periimplantar [tese] São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2014. Versão Original.

A colonização bacteriana no sulco periimplantar ocorre muito precocemente, logo após a cirurgia de instalação dos implantes. Com este intuito, o projeto foi proposto a fim de avaliar o efeito da terapia fotodinâmica (PDT) na manutenção da crista óssea alveolar. Em um estudo de boca dividida, 20 pacientes foram reabilitados com implantes Standard Plus (Straumann®), divididos em dois grupos: um grupo controle (GC) e um grupo submetido à terapia fotodinâmica (GPDT), cujo protocolo foi: densidade de energia 120J/cm², potência de 40mW, associada ao corante azul de metileno a 0,005%. As aplicações foram realizadas no dia da instalação do implante, após 15, 30 e 45 dias. As coletas microbiológicas foram efetuadas no período inicial e 6ª semana, nos dois grupos, utilizando cones de papel estéril. No GPDT, outras duas coletas foram realizadas após aplicação da terapia: no dia da cirurgia e após 45 dias. As unidades formadoras de colônias totais (UFCt) e pigmentadas de preto (UFCpig) foram contadas. Dados clínicos (Índice de Placa- IP e Sangramento a Sondagem- SS modificados por Mombelli) foram obtidos na 6ª semana, 6 meses e 1 ano. Análise radiográfica, com radiografias periapicais, foram efetuadas utilizando a técnica da subtração radiográfica. As películas foram digitalizadas com o scanner SprintScan 35 Plus - Polaroid. Com softwares de manipulação de imagens (Adobe Photoshop CS2®- Califórnia, EUA e ImageJ- National Institutes of Health) foram medidas as distâncias do ombro do implante ao primeiro contato implante-osso, nas seguintes fases: inicial; 6ª semana; instalação da prótese, 6 meses e 1 ano após instalação protética. Os testes estatísticos aplicados foram Friedman, Wilcoxon e Mann-Whitney. Quanto à eficiência da PDT, os resultados mostraram que houve uma redução, estatisticamente significativa, tanto para UFCt como UFCpig nos dois momentos aplicados. O número de UFCt e UFCpig do pós-cirúrgico até a 6ª semana apresentou aumento, estatisticamente significativo, nos dois grupos. No comparativo entre grupos não houve diferença, estatisticamente significativa, entre a diferença do número de UFCt e UFCpig do período inicial até a 6ª semana. O IP e SS foram similares entre os dois grupos. A avaliação radiográfica mostrou que houve uma

perda da crista óssea crescente do período inicial até a instalação da prótese, que se manteve mantêm estável após um ano de função para os dois grupos. A média da perda óssea, do período inicial até a instalação da prótese, foi de 0,73mm para o GC e de 0,84mm para o GPDT. Durante o período de função protética as médias de perda óssea foram, respectivamente, 0,27mm e 0,19mm para os GC e GPDT, sem diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Concluiu-se que: a PDT é eficiente para a redução das UFCt e UFCpig, presentes no sulco periimplantar, durante a osteointegração; a PDT não impede a recolonização, nem o crescimento bacteriano ao longo do tempo, exceto as UFCpig do GPDT, onde a quantidade de bactérias durante a osteointegração manteve-se estatisticamente estável; e com relação à manutenção da crista óssea periimplantar, os GC e GPDT tiveram resultados similares, sem diferença estatisticamente significativa.

Palavras-chave: Implante Dentário. Microbiologia. Descontaminação. Terapia Fotodinâmica. Técnica de subtração. Radiografias dentárias digital.

ABSTRACT

Franco JEM. Influence of photodynamic therapy in the maintenance of peri-implant bone crest [Thesis] São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2014. Versão Original.

Bacterial colonization of the peri-implant sulcus occurs very early, right after the implant placement surgery. To this purpose, the project was proposed to evaluate the effect of photodynamic therapy (PDT) in the maintenance of {the} alveolar bone crest. In a split-mouth study, 20 patients were rehabilitated with Standard Plus implants (Straumann®) and they were divided into two groups: a control group (CG) and a group submitted to photodynamic therapy (GPDT), whose protocol was: energy density of $120\text{J}/\text{cm}^2$ at power of 40 mW, combined with 0,005% methylene blue. The applications were performed on the day of implant placement, after 15, 30 and 45 days. Microbiological samples were collected in the initial period and after 6 weeks on both groups, using sterile paper cones. In GPDT, two other collections were made after the application of the therapy: on the day of surgery and after 45 days. The total colony forming units (UFCt) and pigmented black units (UFCpig) were counted. Clinical data (Plaque Index-IP and Sulcus bleeding index- SS modified by Mombelli) were obtained at the 6th week, 6 months and 1 year. Radiographic analysis with periapical radiographs were made using the radiographic subtraction technique. The films were digitalized with the scanner SprintScan 35 Plus- Polaroid. Using image manipulation softwares (Adobe Photoshop® CS2- California and ImageJ-National Institutes of Health) distances from the implant shoulder to the first bone-implant contact were measured in phases: initial; 6th week; installation of the prosthesis, 6 months and 1 year after prosthetic installation placement. Friedman, Wilcoxon and Mann-Whitney were the statistical tests applied. Concerning the PDT efficacy, the results presented a statistically significant reduction for both UFCt and UFCpig in the two performed moments. The number of UFCt and UFCpig of the immediate postoperative to 6 weeks indicated a statistically significant increase in both groups. Comparing both the two groups, there was no statistically significant difference between the number of UFCt and UFCpig of the initial period to the 6th week. The IP and SS were similar in both groups. Radiographic evaluation indicated that there was an increasing loss of bone crest during the initial period and the

installation of the prosthesis, which remained stable after a year of function for both groups. The bone loss average from the initial period until the installation of the prosthesis was 0,73mm for the GC and 0,84mm for the GPDT. During the prosthetic function the bone loss averages were, respectively, 0,27mm and 0,19mm for the GC and for the GPDT, with no statistically significant difference for both groups. The data led to the conclusion that: PDT is effective in reducing UFCt and UFCpig present in the peri-implant groove during the osseointegration; the PDT does not avoid the re-colonization or bacterial growth over time, except for the UFCpig of GPDT, wherein the amount of bacteria during the osseointegration remained statistically stable; and regarding to the maintenance of the peri-implant bone crest, the GC and GPDT obtained had similar results, with no statistically significant difference.

Keywords: Dental Implantation. Microbiology. Decontamination. Photochemotherapy. Subtraction technique. Digital dental radiography.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CO ₂	dióxido de carbono
Cm	centímetro
cm ²	centímetro quadrado
μm	micrometro
μM	micromolar
μg	micrograma
mL	mililitro
mm	milímetro
mW	mili Watt
nm	nanômetro
mg	miligrama(s)
ATP	Trifosfato de adenosina
DNA	Ácido desoxirribonucleico
RNA	Ácido ribonucleico
g	grama
g/mol	grama por mol
h	hora
Hz	<i>hertz</i>
J	Joules
J/cm ²	Joules por centímetro quadrado
pH	potencial hidrogeniônico
PDT	Photodynamic Therapy (terapia fotodinâmica)
s	segundo
SDR	subtração radiográfica digital
UFC	Unidades formadoras de colônias
W	Watt

LISTA DE SÍMBOLOS

CO_2	dióxido de carbono
λ	comprimento de onda
AsGaAl	arseneto de gálio e alumínio
Ca	cálcio
InGaAlP	<i>fosfeto de índio-gálio-alumínio</i>
Nd:YAG	granada de ítrio e alumínio dopada com neodímio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO DA LITERATURA	18
2.1 Colonização periimplantar	18
2.2 Terapia Fotodinâmica	21
2.3 Manutenção da crista óssea periimplantar	28
3 PROPOSIÇÃO	33
4 MATERIAL E MÉTODOS	34
4.1 Sujeitos da Pesquisa	34
4.2 Instalações dos Implantes	35
4.3 Coroas Temporárias e Definitivas	37
4.4 Terapia Fotodinâmica (PDT)	38
4.5 Análise microbiológica	40
4.6 Avaliação Radiográfica	43
4.6.1 Processo de Mensuração das Imagens	46
4.7 Avaliação Periimplantar	49
5 RESULTADOS	50
5.1 Resultados Microbiológicos	50
5.1.1 Análise da eficiência da PDT no período inicial e na 6ª semana	51
5.1.2 Análise do crescimento bacteriano do período inicial para 6ª semana, dos GC e GPDT, e comparação entre grupos	52
5.2 Resultados Radiográficos	54
5.2.1 Análise intra grupo- GC e GPDT	55
5.2.2 Análise entre grupos- GC e GPDT	56
5.3 Resultados das avaliações periimplantares	57
6 DISCUSSÃO	58
7 CONCLUSÃO	63
REFERÊNCIAS	64
ANEXOS	76
APÊNDICES	82

1 INTRODUÇÃO

A busca por tratamento mais rápido e confortável para os pacientes levou à criação do protocolo de implantes não submersos, o que evita, desta forma, uma segunda intervenção cirúrgica (reabertura dos implantes), acelerando a reabilitação oral. Nessa técnica, o processo de osseointegração e a cicatrização periimplantar ocorrem ao mesmo tempo.

Imediatamente após a cirurgia de instalação do implante não submerso, forma-se um coágulo que ocupa o espaço entre a mucosa e o implante e entre a mucosa e o processo alveolar, infiltrado por numerosos granulócitos e neutrófilos. Um selamento da mucosa inicial é estabelecido durante essa fase pelo agrupamento de leucócitos em uma densa rede de fibrina (Hermann et al., 1997; Berglundh et al., 2007). A maturação tecidual só ocorre após algumas semanas de cicatrização (Berglundh et al., 1994; Lang et al., 1994; Ericsson et al., 1995; Hermann et al., 1997; Weber; Cochran, 1998; Abrahamsson et al., 1999; Moon et al., 1999; Berglundh et al., 2007).

Esta maturação tecidual também influencia diretamente o processo de sauserização, descrito pela literatura como a perda óssea pericervical ao redor dos implantes, após exposição ao meio bucal (Albrektsson et al., 1981, 1986; Berglundh; Lindhe, 1996; Cochran et al., 2009).

O processo de sauserização, segundo Consolaro et al. (2009), apresenta a seguinte sequência: uma vez instalado o cicatrizador o epitélio estratificado pavimentoso da mucosa bucal se justapõe à superfície com sua espessura normal. As células ulceradas pelo trauma cirúrgico unem-se a mediadores para que ocorra uma interação com seus receptores, o que leva a uma proliferação epitelial periimplantar, estimulada pelo fator de crescimento epidérmico ou epitelial da saliva e das células epiteliais que, por sua vez, inicia a formação do epitélio juncional periimplantar. Este passa ter um aumento do número de camadas de células e assume uma conformação semelhante à do epitélio juncional dos dentes naturais. O epitélio juncional peri-implantar aproxima-se da superfície osseointegrada provocando a reabsorção óssea dando início à saucerização em busca de um espaço biológico estável entre o osso cervical integrado ao implante e o epitélio juncional periimplantar, tal como ocorre nos dentes naturais. Ao finalizar este processo, tem-se

um equilíbrio e estabilização da saucerização, permitindo que o osso volte a se corticalizar na superfície cervical e o processo de proliferação epitelial de renovação celular volta ao normal.

Portanto, os tecidos periimplantares funcionam como uma barreira isolando o meio externo (oral) do interno (contato implante/osso) (Lang et al., 1994; Weber et al., 1996; Weber; Cochran, 1998; Moon et al., 1999; Berglundh et al., 2007). Em outras palavras, a formação de uma barreira de tecido mole em implantes é o resultado de um processo de maturação dentro do tecido epitelial e de proliferação durante a cicatrização de feridas (Novaes et al., 2006; Berglundh et al., 2007).

Alguns autores (De Boever; De Boever, 2006; Furst et al., 2007) mostraram que a colonização por microrganismos no sulco periimplantar ocorre muito precocemente, logo após a cirurgia de instalação dos implantes não submersos. Estes microrganismos estão envolvidos tanto nas falhas precoces (Esposito et al., 1999; O'Mahony et al., 2000; Cury et al., 2003; Tolstunov, 2006) (infecção) como nas tardias (periimplantite) (De Lorenzo et al., 1997; Esposito et al., 1999; O'Mahony et al., 2000; Cury et al., 2003; Tolstunov, 2006).

Essa colonização inicial segue um modelo, com a adesão de colônias primárias, formando a película adquirida. Em seguida, os colonizadores secundários fixam-se através da adesão interbacteriana (Furst et al., 2007) que, juntos, criam um biofilme. Este promove uma proteção para as bactérias contra agentes antimicrobianos, dificultando sua remoção com a higienização oral (Furst et al., 2007). Este quadro é mais desfavorável para pacientes parcialmente edentados, uma vez que os dentes funcionam como um reservatório de bactérias (inclusive as periodonto patogênicas) que, por sua vez, colonizam o sulco periimplantar, exigindo um ótimo controle de higienização (De Lorenzo et al., 1997; Von Pressentin, 1997; Esposito et al., 1999; Botero et al., 2005; de Leita et al., 2005; Covani et al., 2006; De Boever; De Boever, 2006), mesmo em paciente com uma condição clinicamente saudável.

Contudo, na maioria dos casos, durante o processo inicial de osseointegração, a higienização não é realizada adequadamente por receio do paciente em traumatizar a área cirúrgica (Furst et al., 2007). Assim, são favorecidos a colonização e o crescimento microbiano (Furst et al., 2007), especialmente de Gram-negativos, devido ao aumento do exsudato gengival, à presença de sangue e a uma menor tensão de oxigênio no ambiente (De Lorenzo et al., 1997). Portanto, o

controle de placa é fundamental na manutenção e estabelecimento da barreira tecidual dos implantes (Ericsson et al., 1995).

Visando minimizar a contaminação, são realizados controles pré e pós-operatórios, por meio do uso profilático de antimicrobiano (antibiótico de amplo espectro) (De Lorenzo et al., 1997) e enxaguatórios bucais. Porém, nem a utilização de desinfetantes antibacterianos e de antibióticos sistêmicos conseguem a remoção completa das bactérias da região periimplantar (Furst et al., 2007). E a influência deste remanescente bacteriano, sobre os processos acima descritos, ainda não estão claros na literatura.

Inúmeros trabalhos têm associado a terapia fotodinâmica ou PDT (Photodynamic Therapy) como um complemento para a desinfecção de vários procedimentos clínicos, dentre eles a periimplantite (Bombeccari et al., 2013; Bassetti et al., 2014; Marotti et al., 2013). Sua ação se deve à associação de um laser de baixa potência a um fotossensibilizador. Este, quando ativado, passa a absorver os fótons, convertendo-se em um estado excitado. A energia transferida para as moléculas vizinhas resulta na formação de moléculas reativas, como o oxigênio singleto, os íons superóxidos, as hidroxilas e outros radicais livres, que podem danificar ou matar as células bacterianas (Zanin et al., 2002; Marotti et al., 2013), além de neutralizar os fatores de virulência presentes após a morte bacteriana (Bhatti et al., 1997).

A PDT apresenta como vantagens: ser um método não invasivo, que não apresenta evidência de promover resistência bacteriana; baixo custo quando comparado ao laser de alta potência; sem efeitos colaterais, e ainda age seletivamente na área de aplicação (Bhatti et al., 1997; Usacheva et al., 2001; Pfitzner et al., 2004; Wilson et al., 1992; Hayek et al., 2005; Yamada Júnior et al., 2004).

A principal forma de avaliação da manutenção da crista óssea é o exame radiográfico por fornecer informações sobre o osso peri-implantar (De Moraes et al., 2009). Para refinar o acompanhamento radiográfico deve-se padronizar, geometricamente, as tomadas radiográficas. Isto permite utilizá-las em análises lineares ou de subtração digital, para visualizar variações no rebordo alveolar, tais como formação ou reabsorção óssea peri-implantar (Wenzel et al., 1992; Hänggi et al., 2005; Jung et al., 2008; Cochran et al., 2009; De Moraes et al., 2009), com altas taxas de sensibilidade (94,4%) e especificidade (97,7%) (Jeffcoat, 1992).

Este trabalho busca utilizar a PDT como um complemento do controle bacteriano pós cirúrgico e avaliar, por meio da subtração digital radiográfica (SDR), as mudanças da crista óssea periimplantar.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Colonização periimplantar

A exposição dos implantes à cavidade oral leva, inicialmente, à formação de uma película adquirida. Tal película promove a interface entre a superfície do implante e os microorganismos primários que, por sua vez, criam um arcabouço para a colonização de microorganismos secundários.

Alguns trabalhos buscaram avaliar esse processo na sua fase inicial, dentre eles:

Barboza et al. (2002) fizeram um estudo cujo objetivo foi avaliar os níveis da crista óssea adjacente aos implantes dentários submersos e expostos durante a fase inicial de cicatrização. Além disso, avaliou-se a microbiota em torno de implantes expostos. Dez pacientes receberam implantes bilaterais na mandíbula, um submerso e outro não. Radiografias periapicais padronizadas foram realizadas no dia da cirurgia e após quatro meses. Culturas bacterianas foram obtidas a partir dos sítios dos implantes expostos à cavidade bucal. Todos os pacientes apresentaram perda óssea maior em torno dos implantes expostos. *Prevotella sp.*, *Streptococcus beta-hemoliticus* e *Fusobacterium sp.* foram os microorganismos identificados na maioria dos sítios. A exposição dos tapa implantes cria focos para o acúmulo de placa que podem promover a perda óssea periimplantar. Assim sendo, a fase inicial da cicatrização pode ser crítica para o sucesso do implante.

Em uma pesquisa (De Boever; De Boever, 2006) com 22 pacientes parcialmente edentados, tratados previamente para doença periodontal agressiva, verificou-se a presença ou não de cinco patógenos (*Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Aa), *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Prevotella intermedia* (Pi), *Tannerella forsythensis* (Tf) e *Treponema denticola* (Td) ao redor de 68 implantes não submersos (Straumann®) após 10 dias, um, três e seis meses de pós-cirúrgico. Passados 10 dias, quatro pacientes foram positivos ($>10^3$ ufc) para Aa; 16 para Pg; um para Pi; sete para Tf e oito para Td. Decorridos seis meses, dois pacientes foram positivos para Aa; 23 para Pg; dois para Pi; 27 para Tf e 25 para Td; portanto, o número de implantes positivos para periodontopatógenos aumentou de

36 para 66. Radiografias periapicais foram realizadas depois de um e três meses de pós-operatório e no início da fase protética. A análise microbiológica ao redor dos implantes manteve-se praticamente inalterada e não prejudicou a osteointegração clínica e radiográfica, não levando à periimplantite, mucosite ou início de destruição óssea.

Quirynen et al. (2006) analisaram a dinâmica de colonização subgengival do sulco periimplantar de 42 pacientes parcialmente desdentados. Por indivíduo, foram coletadas, de bolsas rasas e médias ao redor dos implantes, quatro amostras de placa subgengival (teste) e dos dentes dentro do mesmo quadrante (controle), nos prazos de uma, duas, quatro, 13, 26 e 78 semanas após a instalação do cicatrizador. Utilizou-se, então, o teste de reação de cadeia da polimerase, que revelou uma complexa microbiota (incluindo várias espécies patogênicas) nos sulcos periimplante, dentro de duas semanas após a instalação do cicatrizador. Após sete dias, a frequência de detecção para a maioria das espécies, incluindo as bactérias associadas com periodontite, já era praticamente idêntica em amostras do sulco periimplantar (5% e 20% da microbiota pertencente ao complexo vermelho e laranja), quando comparadas com as amostras dos dentes de referência. Na 13ª semana, o número de bactérias teve pequenas alterações nas proporções relativas de bactérias associadas com periodontite (8% e 33% da microbiota pertencente aos complexos vermelho e laranja, respectivamente). Em duas semanas com as técnicas culturais, pequenas diferenças entre os dentes e implantes foram encontradas. A partir de três meses, essas diferenças desapareceram. Este estudo indica que a colonização inicial de bolsas periimplantar, com bactérias associadas com periodontite, ocorre dentro de duas semanas.

Furst et al. (2007) acompanharam a colonização periimplantar no pós-cirúrgico imediato de implantes e após uma, duas, quatro, oito e 12 semanas de pós-cirúrgico. Eles compararam esta microbiota subgengival com a dos dentes adjacentes aos implantes. Os resultados obtidos mostraram a ocorrência de uma colonização após 30 minutos, no sulco periimplantar, com aumento gradativo até a 12ª semana de pós-cirúrgico. Ao comparar os sítios dos dentes com os dos implantes após 30 minutos, um número significativamente maior de bactérias foi verificado nos primeiros (27/40 espécies). Em 12 semanas de pós-cirúrgico, aumentou para 35/40 espécies ao redor dos dentes, contra 29/40 ao redor dos implantes. Com essas informações, chegou-se à conclusão de que a colonização

bacteriana já está presente no sulco periimplantar 30 minutos após a colocação do implante, e os padrões iniciais de colonização diferem entre o implante e as superfícies dentárias.

Os trabalhos acima mostraram que, além da contaminação crescente no sulco periimplantar, ao longo do tempo, existe uma contaminação inerente ao ato cirúrgico de instalação dos implantes. Alguns cuidados durante esse procedimento cirúrgico podem ser realizados de maneira a minimizar essa contaminação.

De Leitão et al. (2005) avaliaram a presença de DNA, através da reação em cadeia da polimerase, de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella intermédia*, em amostras do sulco periimplantar de 19 pacientes (dez apresentavam histórico de doença periodontal), parcialmente desdentados, com implantes instalados há mais de um ano. A presença desses patógenos foi observada em sete amostras, das quais quatro eram de pacientes sem histórico. Os autores concluíram que, mesmo quando sinais inflamatórios significantes estão ausentes, a detecção qualitativa pode indicar risco de periimplantite, requerendo maior rigor no controle pós-operatório.

Botero et al. (2005) pesquisaram as diferenças bacterianas da microbiota subgingival, entre implantes saudáveis (IS) e implantes com doença periimplantar (IDP), com pelo menos um ano de função, a partir instalação da prótese. Avaliações clínicas foram realizadas: índice de placa; sangramento a sondagem; profundidade de bolsa; mobilidade; supuração e radiografias. De 11 pacientes, amostras microbianas foram coletadas de 16 IDP; 12 de dentes vizinhos aos IDP; e 11 de dentes não vizinhos para os IDP. Oito pacientes, com 15 IS, servirão de controle. Houve diferença estatística entre a microbiota subgingival de IDP e IS para bastonetes entéricos Gram-negativos ($p < 0,05$). A presença de *P. gingivalis* foi detectado em IDSP, mas não em IS. Duas correlações significativas foram encontradas: uma entre a microbiota subgingival de IDP e dentes vizinhos referente a bastonetes entéricos Gram-negativos ($p = 0,023$), e outra entre IDP e dentes não-vizinhos para *P. gingivalis* ($p = 0,042$). A detecção de frequência de bastonetes entéricos Gram-negativos (75%) e *P. intermedia/nigrescens* (25%) foi maior nos IDP ($p < 0,05$). Concluiu-se que a microbiota subgingival de IDP apresentou níveis elevados de bactérias periodontopatogênicas e bactérias superinfectantes em relação aos IS.

2.2 Terapia Fotodinâmica

A terapia fotodinâmica é definida como uma reação fotoquímica, oxigênio-dependente na qual a ativação de um corante, conhecido como fotossensibilizador, por uma luz visível e de comprimento de onda apropriado, leva à geração de espécies de oxigênio reativo, principalmente oxigênio singleto ou radicais livres, que são tóxicos aos microorganismos (Ochsner, 1997; Wainwright, 1998; Maisch, 2007).

Sua ação deve-se à transferência da energia do feixe de luz laser para o corante, endógeno ou exógeno, que deve estar impregnado em alguma estrutura do microorganismo alvo. A energia absorvida pelo corante produzirá substâncias altamente reativas que causarão sua morte. As reações do tipo I ou II que ocorrem são de oxido-redução e peroxidação (superóxidos), que resultam na degradação de proteínas, inibição de replicação e aumento de permeabilidade em membranas e paredes celulares. Além da ação imediata, essa técnica não promove injúria aos tecidos circunvizinhos, nem aumento de temperatura (Soukos et al., 1996; Wainwright, 1998; Prates et al., 2007).

Na reação do tipo I, ocorre a transferência de energia do fotossensibilizador excitado a um substrato oxidável. A transferência de elétrons ou átomos de hidrogênio gera um radical no substrato semi-oxidado e corante semi-reduzido. A subsequente reação de ambos com o hidrogênio leva à formação de um substrato oxidado, à volta do fotossensibilizador ao estado fundamental e à produção de espécies reativas de oxigênio (Martin; Logsdon, 1987). Na reação do tipo II, o estado tripleto do fotossensibilizador passa sua energia de excitação para o oxigênio molecular no estado fundamental. A molécula resultante é o oxigênio singleto, um poderoso agente oxidante e altamente tóxico para as células. Sendo assim, os fotossensibilizadores, sob iluminação com comprimento de onda apropriado, são excitados para promover a produção de espécies reativas de oxigênio. As subsequentes reações dessas espécies no meio biológico resultam em inativação das células-alvo por meio de reações de oxido-redução com lipídeos da membrana celular, ácidos nucleicos e proteínas. A iluminação precisa da área alvo aumenta a seletividade da terapia, uma vez que somente na área irradiada ocorre o efeito fotodinâmico (Wainwright, 1998).

Essa técnica apresenta diversas vantagens no tratamento de infecções causadas por microrganismos patogênicos, tais como o amplo espectro de ação; ausência de efeito colateral; baixo potencial mutagênico; ser uma terapia específica à célula alvo; início de sua atividade somente quando exposta à luz; e o não favorecimento da seleção de cepas resistentes (Jori et al., 2006; Maisch, 2007), muito comum com o uso indiscriminado de antibióticos (van Winkelhoff et al., 1996).

A PDT pode ser influenciada, entre outros fatores, pelo pH do meio; conteúdo de água; presença de exsudato; sangue; comprimento de onda do laser; energia utilizada; tempo de exposição à luz laser; tipo, concentração e tempo de permanência do agente fotossensibilizador (Wilson, 1994; de Almeida et al., 2006).

Dentre os inúmeros fotossensibilizadores utilizados na PDT, o azul de metileno (AM) está entre os mais utilizados e pesquisados na área odontológica, devido à ressonância com os lasers de emissão na região vermelha do espectro eletromagnético.

Trata-se de um composto aromático heterocíclico, do grupo dos corantes fenotiazínicos, sólido verde escuro, com fórmula molecular $C_{16}H_{18}N_3S$ e massa molar 319,85 g/mol. Pode ser utilizado em alta concentração (1%) sem causar toxicidade em humanos (Wainwright, 1998; Meisel; Kocher, 2005; Miyamoto et al., 2007). Os corantes fenotiazínicos atuam de forma eficiente em bactérias, sendo mais efetivos contra as bactérias Gram-positivas do que as Gram-negativas (Usacheva et al., 2001; Teichert et al., 2002; Gad et al., 2004).

Efetivo na PDT, devido ao seu comprimento de onda de absorção máxima igual a 660nm (vermelho visível), possui boa penetração no tecido alvo, com mínima toxicidade e ação microbiana (Usacheva et al., 2001; Teichert et al., 2002).

O AM, por ser um fotossensibilizador catiônico, promove uma ligação eletrostática na superfície externa da célula, o que causa um dano inicial à sua parede e induz uma maior atividade fotodinâmica contra as bactérias (Wainwright, 1998; Gad et al., 2004; Meisel; Kocher, 2005; Jori et al., 2006; Miyamoto et al., 2007; Prates et al., 2007).

Sua ação fotodinâmica ocorre por meio da geração, principalmente, do oxigênio singlete, uma espécie excitada altamente reativa capaz de oxidar moléculas orgânicas com alta densidade eletrônica, como por exemplo, lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos (Wainwright, 1998; Miyamoto et al., 2007).

Diversos autores buscaram determinar, *in vitro*, os melhores protocolos para PDT além de identificar os fatores que influenciam essa terapia.

O trabalho de Usacheva et al. 2001 teve como objetivo avaliar a eficácia do azul de metileno e do azul de toluidina O na fotossensibilização letal de microorganismos patogênicos. Os corantes foram utilizados nas concentrações: 10, 20, 30 40, 50, 100, 150, 200µM em diferentes bactérias, *in vitro*, como: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Hemophilus influenzae*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginos*. Os protocolos dos lasers foram: Argônio com comprimento de onda de 630nm e o laser diodo de comprimento de onda de 664nm variando de 10 e 60J/cm² e a intensidade de 50 a 100mW/cm². Os resultados obtidos pelos autores indicaram que todos os microorganismos foram eliminados em algum grau quando expostos aos dois lasers na presença dos corantes. No entanto, a fotossensibilização dependeu do corante utilizado, sua concentração, fluência, tempo de contato e intensidade da luz, assim como da espécie bacteriana envolvida.

Matevski et al. (2003) realizaram um estudo, *in vitro*, para avaliar se alguns fatores externos, como a presença do fluido gengival, sangue, saliva, dentre outros, podem ter influência nos resultados da terapia fotodinâmica. A fotossensibilização letal foi analisada em culturas de bactérias periodontopatogênicas como as *P. gingivalis*, *B. forsythus*, *F. nucleatum*, *P. intermédia*, *A. actinomycetemcomitans* associadas ao sangue ou ao soro fisiológico simulando o fluido gengival, tendo como fonte de luz o laser de He-Ne 635nm e lâmpada de xenônio com filtro vermelho. A droga fotossensibilizadora testada foi o azul de toluidina O, nas concentrações de 12,5µmg/ml e 50µmg/ml. Os autores puderam observar redução na concentração dessas bactérias, quando a terapia fotodinâmica foi realizada com as duas fontes de luz, com exceção apenas para o *B. forsythus*, que apresentou um aumento ao ser exposto à terapia fotodinâmica com a luz de xenônio. Os autores concluíram que apesar da ação bactericida ser significativa, a PDT tem sua ação afetada negativamente pela presença de sangue e fluido gengival, pois estes podem refletir ou absorver a luz, além de promover um “efeito protetor” para as bactérias, impedindo a penetração do corante e do laser até a célula alvo.

Gad et al. (2004) analisaram o efeito de corantes catiônicos, dentre eles o azul de metileno, ativados pelo laser com 665nm de comprimento de onda e 40J/cm² de densidade de energia, depositada em *Staphylococcus epidermoides* e *aureus*,

com alterações na cápsula e na produção de exotoxinas. Concluiu-se que a PDT é eficaz sobre as cepas testadas.

Diante do número de trabalhos, *in vitro*, que mostram o efeito letal da terapia fotodinâmica sobre bactérias periodontopatogênicas, abriu-se caminho para estudos com animais e em humanos, com destaque para trabalhos realizados a fim de combater a doença periimplantar.

Em 2006, Shibli et al. avaliaram clínica e histomorfometricamente os resultados da terapia fotodinâmica, coadjuvante da regeneração óssea guiada, no tratamento de periimplantites em cinco cães. Foram necessários 40 implantes dentais com quatro diferentes superfícies: 10 de titânio puro; 10 de titânio tratadas com plasma; 10 tratadas com ácido e 10 jateados com óxido. Feita a indução de periimplantites por ligaduras e decorridos três meses, os animais foram submetidos ao tratamento cirúrgico, no qual metade da boca foi tratada por debridamento mecânico e regeneração óssea guiada (lado controle), enquanto que a outra parte (lado teste) recebeu o mesmo tratamento do controle associada a PDT. O laser utilizado foi diodo AsGaAl, com comprimento de onda de 830nm, potência de 50mW e tempo 80s ($4\text{J}/\text{cm}^2$), tendo o azul de toluidina como agente fotosensibilizador ($100\mu\text{g}/\text{ml}$). Os animais foram sacrificados cinco meses após os tratamentos. O grupo controle apresentou uma exposição precoce das membranas em todas as superfícies, já no grupo teste foi observada uma maior altura óssea. A conclusão foi que a terapia fotodinâmica associada à regeneração óssea guiada permitiu uma melhor re-osseointegração nas áreas adjacentes aos defeitos periimplantares.

Em um estudo (Dortbudak et al., 2001) com 15 pacientes diagnosticados com periimplantite foi demonstrado redução bacteriana (*P. gingivalis*, *P. intermedia* e *A. actinomycetemcomitans*) em implantes IMZ, utilizando laser de diodo (690nm) associado ao azul de orto-toluidina. A redução obtida foi de 92%, em média, sendo 97% para *P. gingivalis*.

Em pesquisa com cães, Shibli et al. (2003) analisaram o tratamento da periimplantite associado à terapia fotodinâmica, seguida de regeneração óssea guiada. A periimplantite foi induzida por ligadura, durante dois meses e, após remoção da mesma, esperou-se o desenvolvimento da periimplantite crônica por 12 semanas. Os cães foram, então, tratados com debridamento mecânico e posterior fotossensibilização, tendo como corante o azul de toluidina O ($100\mu\text{g}/\text{mL}$) associado ao laser diodo de 685nm ($200\text{J}/\text{cm}^2$), com posterior regeneração tecidual guiada.

Concluiu-se que o tratamento da periimplantite, associando PDT e regeneração óssea guiada, obteve formação óssea significativa.

Hayek et al. (2005) compararam os efeitos da terapia fotodinâmica com a técnica convencional na redução microbiana de periimplantites induzidas por ligaduras em cães. Dezoito terceiros pré-molares de nove cães foram extraídos e implantes foram posicionados. Terminada a osteointegração, periimplantites foram induzidas através de ligaduras. Após quatro meses, as ligaduras foram removidas e a flora bacteriana normal foi estabelecida por outros quatro meses. Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos. No grupo convencional, as periimplantites foram tratadas com retalhos mucoperiostais, para realizar a raspagem das superfícies dos implantes, e a seguir as áreas foram irrigadas com clorexidina a 0,12%. No grupo da PDT, após o retalho mucoperiostal as áreas foram tratadas com PDT (Pasta-base de azul de metileno e laser de baixa potência AsGaAl – 660nm, 40mW, 7,2J). As amostras microbiológicas foram obtidas antes e imediatamente após os tratamentos. Os resultados deste estudo mostraram que a *Prevotella sp*, *Fusobacterium sp* e a *S. Beta-haemolyticus* foram reduzidas significativamente para ambos os grupos após o tratamento e nenhuma diferença pode ser observada entre os grupos. Concluiu-se que a terapia fotodinâmica é um método não invasivo eficiente para reduzir microrganismos em peri-implantites.

Em busca de alternativas aos métodos convencionais para suprimir bactérias periodontopatogênicas, Sigusch et al. (2005) utilizaram a PDT com dois tipos de fotossensibilizadores (Cloro e6 e BLC 1010) em cães. Estes foram infectados com *Porphyromonas gingivalis* e *Fusobacterium nucleatum* em áreas subgengivais. Na sequência, foram observados sinais clínicos de inflamação gengival, incluindo aumento do edema e do sangramento após sondagem. Foi feito monitoramento microbiológico antes e depois do tratamento. A PDT foi conduzida com um laser de diodo (662nm e 0.5W de potência) e os fotossensibilizadores. O procedimento da PDT com os dois tipos de fotossensibilizadores causou uma significativa redução na inflamação, quando comparado ao controle feito somente com o laser. Além disso, a PDT associada ao Cloro e6 causou uma notável redução em *P. gingivalis*. Os autores concluíram que a terapia fotodinâmica foi efetiva na redução dos sinais clínicos, como edema e sangramento durante sondagem de uma doença periodontal.

Outro campo que cada vez ganha mais espaço no estudo da PDT é a avaliação e contribuição dessa terapia para cicatrização tecidual, conjuntamente com o efeito bactericida.

Soukos et al. (1996) avaliaram os efeitos da PDT, *in vitro*, sobre queratócitos orais humanos, fibroblastos e *S. sanguis*. O objetivo era avaliar se a PDT atuaria sobre as bactérias causadoras da doença periodontal sem provocar danos aos tecidos adjacentes. Os resultados mostraram que o uso de baixas concentrações de corante associado ao laser provocava a morte bacteriana sem reduzir a viabilidade celular.

Outro estudo (Espinosa, 1999) analisou o processo de reparação de feridas cutâneas associada à droga fotossensibilizadora. Nesse experimento, ratos foram tratados com laser de 635nm ou laser de 904nm, associados ou não ao azul de metileno (100µmg/ml), tendo como controle, feridas não tratadas. O autor observou que a reparação tecidual foi mais evoluída nos grupos tratados com laser ou pela terapia fotodinâmica. Os resultados foram mais evidentes, em ordem decrescente, no grupo tratado com azul de metileno e laser com 635nm, azul de metileno e laser com 904nm, laser de 635nm e laser de 904nm.

Lopes (2000) avaliou a ação do laser, do azul de metileno e da associação dos dois no processo de reparação alveolar em feridas de extração dental infectadas. Para isso, 48 ratos que, após exodontia do incisivo superior, tiveram seus alvéolos contaminados com secreção purulenta de ratos que apresentavam alveolite. Após três dias da evolução da alveolite, esses animais foram divididos em quatro grupos. Grupo I - grupo controle, no qual nenhum tipo de tratamento realizado; Grupo II – curetagem alveolar e posterior irrigação com azul de metileno na concentração de 100µg/mL; Grupo III – curetagem alveolar e posterior aplicação do laser de Arseneto de Gálio e Alumínio com 635nm depositando na área 3,2J/cm² de densidade energética por 240 segundos; Grupo IV- curetagem e aplicação da PDT no mesmo protocolo do laser utilizado no grupo III. Após sete, 15, 21 e 28 dias de tratamento, os ratos foram sacrificados e realizou-se a análise histológica. Concluiu-se que no grupo controle houve um atraso na cronologia de reparação alveolar; o agente fotossensibilizador não promoveu efeitos indesejáveis à reparação alveolar; já o uso do laser promoveu uma reparação mais acentuada e diferenciada que o grupo controle. Quando o autor realizou a PDT, o processo de reparação

alveolar demonstrou-se mais evoluído e diferenciado do que com o azul de metileno ou com o laser isoladamente.

Kömerik et al. (2003) avaliaram a terapia fotodinâmica na cavidade oral de ratos. Após inoculação de 25µl de *P. gingivalis*, na região dos molares superiores, foi administrado topicamente azul de toluidina, nas concentrações de 0,01, 0,1 e 1mg/ml, e laser diodo de 630nm, depositando na área energia de seis, 12, 24 e 48J nos tempos correspondentes de um, dois, quatro e oito minutos. Na análise histológica, nenhuma alteração foi encontrada nas estruturas do periodonto, mesmo nas concentrações mais altas, tanto do corante quanto do laser. Na análise morfométrica, observou-se redução significativa de perda óssea alveolar com o protocolo de 0,1 e 1mg do corante associado ao laser com 48J de energia, em comparação ao grupo controle que não recebera nenhum tratamento. Nenhuma redução significativa de perda óssea alveolar foi constatada com o uso apenas do corante ou do laser. Os resultados radiográficos foram semelhantes aos da análise morfométrica, exceto quando se utilizou 1mg/ml do corante na ausência do laser, o que resultou em significativa redução da perda óssea alveolar. Os autores concluíram em seus estudos que a terapia fotodinâmica, tendo como corante o azul de toluidina, promoveu fotossensibilização letal em um importante periodontopatógeno presente na bolsa periodontal, sem causar danos aos tecidos adjacentes, e que a perda óssea alveolar foi significativamente menor nos ratos tratados com a terapia.

Silva Neto (2004) testou o uso do laser e de drogas fotossensibilizadoras na cicatrização de feridas em ratos. Com o uso do *punch*, foram realizadas as feridas cirúrgicas nos animais e, posteriormente, divididos em seis grupos: 1. Controle (não tratado); 2. Tratados à base de gel; 3. Tratados com droga fotossensibilizadora; 4. Tratados com laser (InGaAlP, 685nm; 2,5J/cm²; 35mW); 5. Tratados com laser em associação com droga fotossensibilizadora (PDT); e 6. Tratados com laser associado à droga fotossensibilizadora e à base de gel. Após o procedimento cirúrgico, as respectivas modalidades terapêuticas foram executadas diariamente, e os animais foram sacrificados no 8º dia. Realizada a análise histológica, os animais dos grupos 3, 4, 5 e 6 apresentaram um maior conteúdo de colágeno e uma melhora na epitelização. A remodelação do tecido conjuntivo foi mais evidente nos grupos 5 e 6. Os resultados indicaram um efeito sinérgico evidente entre o laser, a droga fotossensibilizadora e o gel de liberação da droga na cicatrização tecidual.

Lima et al. (2004) utilizaram o laser e a PDT na cicatrização de feridas cutâneas no dorso de ratos, provocadas por um *punch*. No grupo 1 (controle), as feridas foram executadas com o *punch* a frio; no grupo 2 (controle positivo), com o instrumento aquecido; no grupo 3 (LILT), da mesma maneira que a do grupo 2 e, a seguir, tratadas com laser diodo de AsGaAl (685nm, 50mW, 4,5J/cm²); e no grupo 4, as feridas foram executadas igualmente às dos grupos 2 e 3, seguidas de tratamento com azul de toluidina O (100µg/ml) e laser diodo de AsGaAl (685nm, 50mW, 4,5J/cm²). Os resultados evidenciaram um retardo na cicatrização no grupo 2, enquanto que nos grupos tratados com laser (3 e 4) o processo de cicatrização mostrou-se diferenciado. Os autores concluíram que o laser e a PDT atuam como agente bioestimulador coadjuvante, balanceando os efeitos indesejáveis provocados pela queimadura.

2.3 Manutenção da crista óssea periimplantar

A subtração radiográfica digital permite a detecção de alterações no conteúdo mineral na ordem de 1 a 5%, o que desempenha um papel importante no controle de mínimas mudanças na densidade óssea periimplantar, com um erro médio de até 0,15 mm (Jeffcoat et al., 1984), de reabsorções ósseas de menos de 0,1 mm (Jeffcoat; Wang; Reddy, 1995). Esta detecção não é possível nas radiografias convencionais, nas quais a alteração do constituinte mineral do osso deve ser da ordem de 30 a 50% para a sua detecção (Jeffcoat, 1992; Nicopoulou-Karayianni et al., 1997; Byrd et al., 1998; Jeffcoat et al., 1995).

Para isso são necessárias projeções idênticas, ou praticamente idênticas, sem distorções originadas por pequenas diferenças de angulação no ato da tomada radiográfica, permitindo a precisão de diagnóstico.

A reprodução geométrica das projeções pode ser obtida com posicionadores associados a registros oclusais (Zappa et al., 1991; Zappa et al., 1993). O material utilizado para confecção destes registros oclusais é de suma importância, devido às possíveis distorções no ato da confecção e ao longo do tempo de armazenamento. A resina acrílica é amplamente utilizada nos estudos científicos como material de

eleição (Brägger et al., 1998; Nicopouloukarayianni et al., 1991; Zappa et al., 1991, 1993).

Outros pontos fundamentais são o contraste e os níveis de cinza nas imagens digitalizadas, que devem apresentar um equilíbrio (Webber et al., 1982). Isto é, obtido com a utilização do mesmo tipo de filme, tempo de exposição, potência e processo de revelação (Hardstedt; Welandar, 1974).

Os trabalhos abaixo avaliam, radiograficamente, a manutenção da crista óssea periimplantar, em implantes Straumann®.

Rocuzzo et al. (2001), em um estudo de boca dividida, avaliaram a influência do tratamento de superfície sobre os tecidos periimplantares pelo período de um ano. Foram utilizados 68 implantes (ITI®) tratados com jateamento e ataque ácido (SLA) e 68 implantes pulverizado com plasma de titânio (TPS) em 32 pacientes saudáveis, com sítios desdentados bilaterais comparáveis e sem discrepâncias na dentição oposta. A instalação do pilar foi realizada seis semanas após a cirurgia para SLA e 12 semanas para TPS. Restaurações metalocerâmica foram cimentadas sobre o mesmo tipo de pilares sólidos em ambos os sítios. Medidas clínicas e alterações radiográficas foram registradas pelo mesmo operador, cego para o tipo de superfície do implante, um ano após a cirurgia. Não foram encontradas diferenças significativas, entre os dois tipos de implantes (SLA versus TPS), em relação à presença de placa (24% versus 27%), sangramento à sondagem (24% versus 31%), a média de profundidade de bolsa (3,3mm versus 2,9 mm) ou perda óssea marginal (0,65mm versus 0,77mm). Os autores concluíram que os implantes SLA são adequados para receber carga em 6 semanas.

Os autores Pjetursson et al., (2012) avaliaram a sobrevivência a longo prazo de implantes inseridos em pacientes suscetíveis a periodontite, além de investigar a influência de bolsas residuais sobre a incidência de periimplantite e perda de implante. Foram acompanhados 165 implantes Straumann em 70 pacientes instalados durante o tratamento periodontal. Foram avaliados: sangramento à sondagem (SS), nível clínico de inserção (NCI), e as profundidades de sondagem periimplante (PSP) no início do estudo (T0), após conclusão do tratamento periodontal (T1), e no seguimento (T2). O nível ósseo periimplantar foi avaliado através de mensurações lineares nos três tempos de estudo (T0-T1-T2). Os pacientes foram classificados como tendo implantes não afetados por periimplantite (não-PIP), ou afetados por periimplantite (PIP). Dos 165 implantes inseridos, seis

implantes foram perdidos, traduzindo-se numa taxa cumulativa de sobrevivência de 95,8%. Implantes perdidos devido à infecção periimplantar foram incluídos nos grupos PIP. Considerando periimplantite com PSP $\geq$ 5 mm e positivo para SS, 22,2% dos implantes e 38,6% dos pacientes apresentaram um ou mais implantes afetados por periimplantite. Todos esses implantes demonstraram significativa perda óssea ($\geq$ 2mm) em T2. No T1, o grupo não-PIP apresentou menor número de bolsas residuais ($\geq$ 5mm) por paciente do que o grupo PIP (1,9 versus 4,1 respectivamente), valores estes estatisticamente significativamente ($P = 0,011$). Em T2, o grupo PIP exibiu um maior número de bolsas residuais comparados a T1, ao passo que no grupo não-PIP, o número permaneceu semelhante nos dois tempos. A média de PSP, de NCI e SS foram significativamente maiores no grupo PIP em comparação com o grupo não-PIP para T2. Radiograficamente 78,3% dos implantes mostraram um nível ósseo estável entre 0 e 3mm (incluindo 2,8mm do pescoço polido), 17,1% dos implantes tinham níveis da crista óssea entre 0-1mm, abaixo do nível esperado para implantes Straumann® e 4,6% dos implantes demonstraram significativa perda óssea (>2 mm). Concluiu-se que em pacientes periodontalmente suscetíveis com bolsas residuais periodontais (PSP $\geq$ 5mm), no final da terapia periodontal, representam um risco significativo para o desenvolvimento de periimplantite e perda de implante.

O objetivo deste estudo (Aglietta et al., 2011) retrospectivo foi comparar as taxas de perda óssea marginal de 10 anos ao redor de implantes suportando coroas unitárias em indivíduos tabagistas com e sem história de tratamento periodontal. Foram criados quatro grupos de 10 pacientes cada, dois grupos eram compostos por pacientes comprometidos periodontalmente (PC) e dois grupos de pacientes periodontalmente saudáveis (PH). Todos os PC foram tratados antes da colocação do implante, e posteriormente todos os grupos foram incluídos em um programa de cuidados de manutenção regular, adaptado individualmente. Para a reabilitação de pacientes com PC e PH, foram utilizados dois tipos diferentes de implantes (Nobel Biocare AB; Straumann Dental Implant System). O padrão de perda óssea foi calculado subtraindo as radiografias realizadas no momento da instalação da coroa do controle de 10 anos de acompanhamento. Foram realizadas medições mesiais e distais de todos os implantes. Não foi observada nenhuma diferença estatisticamente significativa entre os grupos para perda óssea no momento da instalação da coroa ($P>0.05$), tendo os implantes Nobel 0,72 $\pm$ 0,31 versus 0,71 $\pm$

0,23 milímetros, e Straumann 1,54+- 0,12 versus 1,49 +- 0,14mm, respectivamente para PC e PH. Após 10 anos, os valores encontrados foram Nobel 4,11+- 0,96 versus 3,20 +- 0,39 milímetros, e Straumann 5,24 +- 1,46 versus 3,69 +- 0,28mm, respectivamente para PC e PH. O diferença da entre 10 anos e o *baseline* foram Nobel 3,47 +- 1,09 versus 2,65 +- 0,31 milímetros, e Straumann 3,77 +- 1,43 versus 2,51 +- 0,31mm, respectivamente para PC e PH. O índice de placa e de sangramento a sondagem da boca toda foram semelhantes para os quatro grupos. As taxas de sobrevivência de implantes variaram entre 70% e 100%, sem diferenças estatisticamente significativas entre os quatro grupos ($P>0,05$). Implantes colocados em pacientes PC apresentaram padrões, estatisticamente significativa, de perda óssea marginal mais elevados em comparação com os de pacientes (P<0,05), independente do sistema de implante utilizado. Os autores concluíram que, após 10 anos, os implantes colocados em indivíduos tabagistas com histórico de tratamento periodontal e participando de um programa de terapia de suporte renderam taxas de sobrevivência mais baixas e maiores padrões de perda óssea marginal em comparação com as de implantes colocados em fumantes PH. Estes resultados foram independentes do sistema de implante instalado ou a modalidade de cicatrização utilizados.

Os pesquisadores (Morton et al., 2010) avaliaram 89 implantes dentários (SLActive, Institut Straumann AG, Basileia, Suíça) em 56 pacientes, as regiões operadas foram posterior da maxila ou mandíbula, e carregados 21 dias após a instalação. Restaurações metalocerâmicas foram instaladas após 6 meses de cura. Os parâmetros clínicos e radiográficos foram obtidos em diferentes tempos (zero, três, seis, 12 e 24 meses) após a instalação dos implantes. Dos 89 implantes inseridos, dois implantes (2,2%) não conseguiram integrar e foram removidos durante a cicatrização, e dois implantes adicionais (2,2%) necessitaram de um tempo de cura prolongado. Um total de 85 implantes (95,6%) foram, portanto, carregados com restaurações provisórias sem incidentes após 21 dias de cura. As avaliações radiográficas foram efetuadas na mesial e distal de todos os implantes através de radiografias periapicais. As médias obtidas foram: 2,37; 2,57; 2,63; 2,60; 2,57 mm nos respectivos tempos zero, três, seis, 12 e 24 meses. Quanto ao índice de placa (IP) e sangramento a sondagem (SS) as médias obtidas após 12 meses foram 0,23 e 0,22 respectivamente. Os resultados deste estudo prospectivo em dois centros demonstram que implantes de titânio com superfície SLA modificado pode

previsivelmente alcançar a osteointegração bem sucedida quando carregados após 21 dias de instalação. Esta osteointegração poderia ser mantida sem incidentes por pelo menos 2 anos de acompanhamento.

3 PROPOSIÇÃO

Reduzir a microbiota periimplantar, principalmente de anaeróbios estritos e facultativos, durante o processo de osteointegração de implantes não submersos, possibilitando avaliar a ação da PDT na manutenção da crista óssea alveolar periimplantar.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi realizado com o auxílio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) cujo projeto foi o de nº 2009/51317-9.

4.1 Sujeitos da Pesquisa

Após a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (Anexo A), deu-se início a seleção dos sujeitos de pesquisa junto ao Departamento de Prótese da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (FOUSP), por meio de uma anamnese (Apêndice A).

Todos os pacientes selecionados foram informados sobre a terapia à qual seriam submetidos e assinaram o “Termo de Consentimento Livre e Esclarecido” (Apêndice B).

Os critérios de inclusão e exclusão estão discriminados na tabela 4.1.

Tabela 4.1 - Critérios de inclusão e exclusão dos sujeitos de pesquisa para o estudo

Critérios de inclusão	Critérios de exclusão
Independente do gênero	Pacientes com histórico de doença periodontal prévia
Independente de Idade	Pacientes que fazem uso de medicação regular
Pacientes com índice de placa baixo (menor que 10% Índice O’Leary)	Pacientes com osteoporose
	Pacientes com gengivite ou periodontite
Presença de pelo menos 2mm de mucosa queratinizada.	Pacientes com dificuldade de executar higienização oral
	Pacientes que tomaram antibiótico nos últimos seis meses
Necessidade de instalação de 2 implantes no arco superior em espaços intercalares	Pacientes imunodeprimidos
	Pacientes diabéticos
	Pacientes fumantes
	Presença de hábitos parafuncionais

Participaram da pesquisa 20 sujeitos de pesquisa (Tabela 4.2), oito homens e 12 mulheres, com idade média de 46 anos. Todos foram submetidos à cirurgia para instalação de dois implantes de um estágio cirúrgico na FOUSP (Apêndice C). O método utilizado foi o estudo de boca dividida, cuja área de tratamento foi escolhida randomicamente, pelo site www.randomization.com (Apêndice D), em dois grupos: um grupo controle (GC) e um grupo submetido à terapia fotodinâmica (GPDT), conforme tabela 4.2.

Tabela 4.2 - Grupos de pesquisa

Grupos de estudo	Procedimento
GC (n=20 implantes)	Uso de antibiótico pré e pós-cirurgia de instalação de implante, bochecho com clorexidine 0,12% no pós-cirúrgico (2x ao dia por 3 semana) e simulação da PDT
GPDT (n=20 implantes)	Uso de antibiótico pré e pós-cirurgia de instalação de implante, bochecho com clorexidine 0,12% no pós-cirúrgico (2x ao dia por 3 semana) e aplicação da PDT

4.2 Instalações dos Implantes

Para seleção dos diâmetros e tamanhos dos implantes, todos os pacientes passaram por exame clínico, confecção de modelos de estudo montados em articulador e tomografia computadorizada.

Antes da cirurgia, todos os pacientes receberam tratamento profilático (orientação de higiene bucal e limpeza mecânica dos dentes) (Cortellini et al., 1994; Cortellini et al., 1996).

A terapêutica medicamentosa instituída foi: amoxicilina 500mg, de oito em oito horas, por sete dias, medicação iniciada um dia antes da cirurgia, e paracetamol 750mg, de oito em oito horas, durante cinco dias, iniciada depois da cirurgia. Todas as cirurgias de instalação dos implantes foram realizadas pelo mesmo cirurgião, sob anestesia local com cloridrato de bupivacaína 0,5% com adrenalina 1:200.000 (sal anestésico do grupo amida com vaso constritor). Uma assepsia extra-oral foi feita com uma solução de Clorexidine a 2.0% e intraoral de 0.12% como bochecho.

Posteriormente, realizou-se uma incisão horizontal supracrístal em envelope e descolamento do periósteo para expor o tecido ósseo.

Com o uso de um contra-ângulo para implantes 20:1, acoplado ao motor elétrico com rotação, irrigação e torque controlados digitalmente, iniciaram-se as perfurações com brocas helicoidais do kit cirúrgico (Straumann® Dental Implant System), de acordo com o protocolo do fabricante, sob abundante irrigação de solução estéril salina. Em seguida, o implante (Standard Plus da Straumann® Dental Implant System) foi instalado a uma distância de, pelo menos, 1,5mm de osso ao redor do implante e 1,5mm das raízes dos dentes vizinhos, com a linha rugosa/lisa do implante colocada ao nível da crista óssea (Figura 4.1).

Figura 4.1 - Seqüência de instalação dos implantes. Observar o cuidado de inserir o implante até a linha rugosa/lisa colocada ao nível da crista óssea

Os tecidos foram reposicionados e suturados (Ethicon Divisão de Johnson & Johnson Seda-Silk 4.0 Seda preta trançada não absorvível) de modo que o parafuso de cobertura ficasse completamente exposto. A remoção das suturas foi feita depois de uma semana.

4.3 Coroas temporárias e definitivas

Após o período de osteointegração, os procedimentos protéticos foram iniciados com a seleção dos pilares e confecção das coroas temporárias, em resina acrílica. Com a adequação do contorno gengival, obtido com as coroas temporárias, realizou-se o molde de transferência dos pilares, com silicona de adição, os modelos de trabalho foram montados em articulador semi-ajustável para realizar as coroas definitivas, confeccionadas em metalo-cerâmica (Figura 4.2).

Em ambas as reabilitações protéticas, um ajuste oclusal criterioso foi executado buscando o equilíbrio entre ação e contra reação das forças bucais. Inicialmente o paciente ocluiu levemente, tanto no ajuste em cêntrica como nos movimentos excursivos, e toda marcação sobre a prótese implanto suportada foi aliviada. Na mordida forte o contato sobre dente e implante foi igual, devido à mobilidade que o dente natural apresenta.

Figura 4.2 - Reabilitação protética com próteses metalo-cerâmica dos elementos 35 e 45

Numa segunda etapa, foi realizada a eliminação ou equilíbrio dos contatos não axiais, já que estes afetam drasticamente a distribuição da carga mastigatória sobre o implante, provocando uma força de tensão na região cervical do implante, no mesmo sentido da resultante da força, e uma força de compressão, no sentido contrário a resultante da força mastigatória.

4.4 Terapia Fotodinâmica (PDT)

Com laser de baixa potência Twin Flex (MM Optics®, São Carlos, Brasil) (Figura 4.3) com área do spot de $0,04\text{cm}^2$ e comprimento de onda de 660nm , foram realizadas aplicações pontuais através de irradiação contínua de $120\text{J}/\text{cm}^2$ de densidade de energia, dividida em quatro pontos de $30\text{J}/\text{cm}^2$ por implante (dois na vestibular e dois na palatina), 30 segundos por ponto, numa potência de 40mW (Campos, Simoes et al. 2008), associado à solução de azul de metileno a $0,005\%$ (Chimiolux, Hypofarma, Ribeirão das Neves, Brasil) (Figura 4.4). Durante as aplicações, tanto os profissionais, quanto os pacientes usaram óculos de proteção específicos (Figura 4.5).

Figura 4.3 - A- Aparelho de laser de baixa potência Twin Flex (MM Optics®, São Carlos, Brasil);
B- Destaque do protocolo utilizado

Figura 4.4 - Corante Chimiolux, solução de azul de metileno a $0,005\%$

Figura 4.5 - Óculos de proteção

No GPDT, foram realizadas aplicações da terapia fotodinâmica no dia da instalação do implante, logo após a primeira coleta microbiológica e, novamente, em 15, 30 e 45 dias.

Sob isolamento relativo, o sulco periimplantar foi irrigado com 1ml de solução de azul de metileno a 0,005% (Figura 4.6). Devido à remoção promovida pelo fluido sulcular, transcorridos dois minutos, uma nova aplicação de corante foi feita para aumentar sua eficiência, por mais três minutos; totalizando cinco minutos para sua melhor absorção pelos microrganismos. Posicionou-se, então, o spot do laser de diâmetro de 6mm e área de 0,04cm², em contato com a região mesio vestibular, onde o laser foi aplicado por 30 segundos. Passando o spot para região disto vestibular, o laser foi aplicado por mais 30 segundos. O procedimento foi repetido na região palatina, seguindo o mesmo protocolo da região vestibular (Figura 4.7 e 4.8). No GC, foram simuladas todas as etapas realizadas no GPDT, com intuito de promover um resultado placebo ao paciente, de forma que não foram aplicados nem o corante, nem o laser.

Figura 4.6 - Aplicação do corante no sulco periimplantar. A- pós-cirúrgico imediato e B- na 6ª semana de pós-operatório

Figura 4.7 - Aplicação do laser. A- Aplicação na região disto vestibular; B- Aplicação na região mesio vestibular; C- Aplicação na região disto palatina; D- Aplicação na região mesio palatina

Figura 4.8 - Vista vestibular dos pontos de aplicação do laser. Os mesmos dois pontos foram realizados por palatino.

4.5 Análise microbiológica

Após período de 30 minutos pós-cirúrgico, na clínica da FOUSP, foi feita uma coleta do sulco periimplantar dos dois grupos, em isolamento relativo, pela inserção de quatro cones de papel estéril (Cone de papel Cellpack 35, Dentsplay Indústria e Comércio Ltda., Petrópolis, Brasil), um por vestibular; um por lingual; um por mesial; e um por distal, por 20 segundos (Figura 4.9). Assim que removidos, os cones foram imediatamente transferidos para frascos, contendo 2mL de meio de transporte VMGA III (Viability Medium Goteborg Anaerobically), com pérolas de vidro de 5mm de diâmetro, para facilitar a mistura e homogeneização da amostra antes do cultivo

(Anexo B). Cada um dos tubos foi identificado com número do paciente, lado da coleta e momento da coleta (Figura 4.10).

Figura 4.9 - Coleta microbiológica. A- Coleta no pós-cirúrgico imediato; B- Coleta na 6ª semana de pós-cirúrgico

Figura 4.10 - Tubos de VMGA III identificados com etiqueta adesiva, com número do paciente, lado e momento da coleta, respectivamente

Uma nova coleta, com os mesmos procedimentos, foi feita no GPDT, após aplicação da terapia.

Passadas seis semanas, período de osteointegração, repetiu-se o processo de coleta microbiológica seguindo os mesmos passos descritos acima (Figura 4.9), mas com o cuidado adicional de remover a placa supragengival com bolas de algodão estéreis (Mombelli, et al. 1987), antes da inserção dos cones de papel estéril.

Todas as amostras coletadas foram encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia Oral do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, em um período máximo de seis horas a partir da coleta.

Os frascos de VMGA III, com os cones de papel, foram incubados a 37°C, por 30 minutos a fim de liquefazer a gelatina, e depois homogeneizadas em agitador de tubos por 30 segundos (Fisher Vortex Genie 2, Fisher Scientific, USA) (Figura 4.11).

Figura 4.11 - Homogeneização do VMGA III, em agitador de tubos por 30 segundos

Alíquotas de 100 ml de cada amostra foram diluídas a 1/100, 1/1.000, 1/10.000 e 1/100.000, em água peptonada (Anexo C) e, posteriormente, semeadas 250 µL de volumes das amostras sem diluição e de cada uma das diluições citadas, em triplicata, em placas de Petri contendo meio ágar Brucella, acrescido de 5% de sangue desfibrilado de carneiro, hemina e menadione (Anexo D).

Na sequência, as placas foram incubadas em jarra de anaerobiose (Anaerojar, Oxoid Ltda, Basingstoke, Hampshire, England) com gerador (AnaeroGemtm, Oxoid Ltda, Basingstoke, Hampshire, England) e indicador de anaerobiose (Anaerobic Indicator, Oxoid Ltda, Basingstoke, Hampshire, England), durante sete dias.

Após essa etapa, as placas foram analisadas em microscópio estereoscópico (Bausch & Lomb) para contagem das unidades formadoras de colônias totais (UFCt) e pigmentadas de preto (UFCpig) (Figura 4.12). Todos os procedimentos realizados no laboratório de microbiologia ocorreram sob a supervisão da Profa. Dra. Silvana Cai.

Figura 4.12 - Método de contagem das UFC. A- Microscópio estereoscópico; B- Unidades formadoras de colônias totais (UFCt) e pigmentadas de preto (UFCpig); C- UFC sem presença de UFCpig; D- UFC vista em C após diluição facilitando a contagem

4.6 Avaliação radiográfica

Foram efetuadas radiografias periapicais em cinco momentos: pós cirúrgico imediato para instalação dos implantes; após 6 semanas de instalação dos implantes; na instalação das próteses; após 6 meses e 1 ano de função mastigatória.

A padronização geométrica das imagens radiográficas foi obtida graças a uma individualização do posicionador radiográfico (Modelo Han-Shin - Indusbello®) para cada região operada. Para tanto, um protótipo feito de resina acrílica quimicamente ativada (Jet®, Artigos Odontológicos Clássico LTDA, São Paulo, SP, Brasil), que se adaptava ao posicionador radiográfico, foi multiplicado utilizando um gabarito em silicone de condensação (Figura 4.13).

Sobre cada peça foram confeccionados registros oclusais individuais em resina acrílica quimicamente ativada de presa rápida (Duralay® Reliance Dental MFG Co., Worth, ILL, EUA) utilizando os modelos de estudo (Figura 4.13). Os registros foram acondicionados em potes umidificadores, visando minimizar sua instabilidade dimensional, sendo desinfetados com ácido peracético a 0,2% durante 30 minutos, antes e após seu uso.

Figura 4.13 - Individualização do posicionador radiográfico. A- Gabarito de silicone confeccionado a partir do gabarito; B- Peça para registro oclusal multiplicado; C- Obtenção do registro oclusal; D- Peça com registro oclusal individualizada em destaque; E- Peça adaptada ao posicionador

A padronização do conjunto posicionador-registro-filme de maneira justaposta ao tubo do aparelho de raios-x, no momento das tomadas radiográficas, um anel de resina quimicamente ativada (Jet®, Artigos Odontológicos Clássico LTDA, São Paulo, SP, Brasil) foi construído. Este anel possibilitou que o conjunto retornasse sempre na mesma posição (Figura 4.14).

Figura 4.14 - Individualização do posicionador radiográfico. A- Anel de resina acrílica encaixado no posicionador com o registro oclusal; B- Prova clínica do registro oclusal; C- Conjunto posicionador-registro-filme encaixado no cone do aparelho de raios-x.

O tempo de exposição foi determinado de acordo com a recomendação do aparelho utilizado para a região operada (Modelo: Dabi Atlante Spectro 70 X Tubo:65 kV / 7,5 mA / Distância focal: = 20 cm / Especificações: 220 V, 4A, 50/60 Hz). As películas (Insight – Kodak®) com as imagens latentes foram armazenadas em estojos individualizados em local com ausência de qualquer tipo de luz e/ou umidade. Em cada película foram colocados o número do paciente, o lado operado e o momento da radiografia.

Todas as películas foram reveladas no mesmo dia e sob as mesmas condições de temperatura. Para tanto, utilizou-se uma reveladora automática (A/T 2000 XR – Air Techniques), na qual os líquidos de processamento (revelador e fixador) foram trocados no mesmo dia.

4.6.1 Processo de mensuração das imagens

Todas as radiografias foram digitalizadas pelo mesmo operador em um escaner de slides (SprintScan 35 Plus –Polaroid) utilizando uma resolução de 1350 dpi, com uma escala de cinza de 8 bits (256 níveis de cinza), produzindo imagens de 3.524 x 3.560 pixels, que foram armazenadas como arquivos TIFF (tamanho do arquivo de 11,9 MB) (Figura 4.15). Os arquivos foram numerados para cada paciente, com o respectivo lado (esquerda ou direita), de acordo com o de tempo de avaliação.

Figura 4.15 - Digitalização das radiografias periapicais, realizado com SprintScan 35 Plus –Polaroid

Após a digitalização das películas, de imagens de cada lado do paciente foram agrupadas, alinhadas, giradas quando necessário, e cortadas, utilizando pontos de referência comuns em todas as imagens. Em seguida, foram separadas e traçadas duas linhas de referências sobre cada imagem, uma paralela à parte superior do ombro do implante, traçada entre a borda apical dos ombros de inclinação de 45° e uma linha paralela ao longo eixo do implante. Portanto, um ângulo de 90° era formado entre essas linhas. Na sequência, foram marcados dois pontos de referência, um sobre o primeiro contato implante-osso (indicado por uma

seta) e outro sobre a linha que percorria o ombro do implante, a uma distância equidistante da linha paralela ao longo eixo do implante em relação ao primeiro ponto. Assim, uma linha traçada unindo os dois pontos de referências era paralela à linha que percorria o longo eixo do implante, propiciando, desta forma, uma medição linear precisa (Figura 4.16). Todas essas etapas foram realizadas com um programa de computador para edição de imagens Adobe Photoshop CS2®- Califórnia, EUA) e visualizadas em uma TV monitor de 40 polegadas Full HD.

Figura 4.16 - Imagens após recorte e padronização. Foram traçadas retas sobre o bisel do implante e longo eixo do implante; setas indicam o primeiro contato osso implante na mesial e distal do implante. A- inicial (pós operatório imediato); B- após seis semanas de pós operatório; C- momento da instalação da prótese; D- seis meses de função mastigatória sobre a prótese; E- um ano de função mastigatória sobre a prótese

Para a mensuração linear das imagens foi utilizado o programa de computador ImageJ, desenvolvido pelo National Institutes of Health (<http://rsb.info.nih.gov/ij/>), que disponibiliza a criação de escalas de mensuração em diversas unidades de medida. No caso deste estudo, a criação da escala utilizada para a mensuração das imagens foi baseada em uma tela radiográfica cujos quadrados mediam 2 x 2 mm cada (Figura 4.17). A tela foi escaneada nos mesmos padrões das radiografias e levada ao ImageJ.

Figura 4.17- Tela radiográfica com quadrados de 2 x 2 mm

A partir deste momento, foram traçadas linhas de referência por cima de um dos quadrados da tela para converter a distância de pixels em milímetros, o que permitiu a mensuração das distâncias nesta unidade. As medições foram realizadas nos sítios mesiais e distais de todas radiografias, por um examinador cego em relação ao grupos (Figura 4.18).

Figura 4.18- Medições do paciente 3 lado direito realizada com auxílio do programa ImageJ. A- Barra de ferramentas do programa; B- Imagem do arquivo TIF ao abrir com o programa ImageJ (radiografia do momento de instalação da prótese dentária); C e D- medições sendo realizadas na mesial e distal do implante respectivamente; D- Planilha gerada pelo ImageJ, já em milímetros, que foi salva gerando um arquivo Excel

Antes da obtenção dos resultados uma calibração do examinador foi realizada para determinar a variabilidade intra-pesquisador. Para tanto, uma amostra de 10% de todos os sítios mesiais e distais foram medidos em duas ocasiões diferentes, separadas por um intervalo de uma semana. A reprodutibilidade foi calculada pelos coeficientes de correlação intra-classe (ICC) e o resultado obtido foi de 95% (Tabela 4.4), portanto, maior que 90% conforme preconizado pela literatura (Schou et al., 2003).

Tabela 4.4– Concordância Intra-examinador – Coeficiente de correlação intra-classe (ICC)

	ICC (95% CI)	p
INICIAL	0,84 (0,64 a 0,93)	< 0,0001
1 ANO	0,97 (0,94 a 0,99)	< 0,0001

4.7 Avaliação periimplantar

Foram adotados os critérios elaborados por Mombelli et al. 1987, tais como: índice de placa (IP) e sangramento a sondagem (SS) modificado para implantes (Tabela 4.5).

Tabela 4.5: IP e SS com os respectivos escores.

IP	0	Não detectado a presença de placa
	1	Placa detectada somente após sondagem, com a sonda percorrendo a superfície lisa do implante
	2	Placa vista a olho nu
	3	Abundância de substância mole
SS	0	Sem sangramento a sondagem
	1	Pontos isolados de sangramento
	2	Sangramento formando uma linha vermelha sobre a margem
	3	Sangramento acentuado ou volumoso

As avaliações serão realizadas nos intervalos pós cirúrgicos de: 6 semanas de pós operatório; após 6 meses e 1 ano de função da prótese. Os avaliadores foram pós-graduandos em periodontia do Departamento de Estomatologia da FOUSP, devidamente calibrados para os parâmetros analisados e cegos em relação aos objetivos da pesquisa.

5 RESULTADOS

5.1 Resultados Microbiológicos

Foram contadas as UFC das três amostras de cada diluição e obtida a média aritmética para cada grupo. A partir dessas médias, foi gerada a Tabela 5.1, que serviu de base para os gráficos de bloxpot (Anexo E).

Antes da comparação intra e entre os grupos, os dados foram testados quanto à sua distribuição, com o teste de Kolmogorov-Smirnov que mostrou uma distribuição anormal, indicando a utilização de testes não paramétricos.

O teste de Wilcoxon, usado para comparar dois tratamentos quando os dados são obtidos por meio do esquema de pareamento, foi utilizado para análise dos dados intra grupos, ao longo do tempo e da avaliação da eficiência da PDT.

Para a comparação entre os grupos, o teste escolhido foi o de Mann–Whitney, para comparar dois grupos independentes.

Todas as análises foram realizadas com o *software* estatístico Minitab, versão 16.0. O nível de significância foi estabelecido em 5% ($p=0,05$).

Tabela 5.1 - Quantidade de bactérias por mL, por grupo, momento da coleta, para UFCt e UFCpig. N= número de amostras analisadas; média e mediana.

Grupo - UFC - Tempo	N	Média	Mediana
GC - UFCt - inicial	20	6,07E+03	2,27E+03
GC - UFCt- 6 ^a semana	20	2,30E+05	1,73E+05
GPDT - UFCt -inicial - Pré	20	1,46E+04	3,40E+03
GPDT - UFCt- inicial - Pós	20	1,95E+03	3,33E+02
GPDT - UFCt- 6 ^a semana - Pré	20	2,40E+05	1,91E+05
GPDT - UFCt- 6 ^a semana - Pós	20	6,03E+04	3,14E+04
GC - UFCpig- inicial	15	1,11E+03	0,00E+00
GC - UFCpig- 6 ^a semana	15	1,67E+04	1,33E+03
GPDT - UFCpig- inicial - Pré	15	1,13E+03	8,00E+01
GPDT - UFCpig - inicial - Pós	15	2,03E+01	0,00E+00
GPDT - UFCpig -6 ^a semana - Pré	15	1,94E+04	1,33E+02
GPDT - UFCpig - 6 ^a semana - Pós	15	9,98E+02	0,00E+00

5.1.1 Análise da eficiência da PDT no período inicial e na 6ª semana

O gráfico 5.1 mostra a quantidade de UFCt dos GC e GPDT (antes e após a terapia), no período inicial e na 6ª semana.

Gráfico 5.1 - Gráfico de bloxpot da quantidade de UFCt/ml, dos GC (Inicial e 6 semana) e GPDT (Inicial e 6 semanas), antes e após a terapia.

A terapia fotodinâmica promoveu uma redução estatisticamente significativa para os dois momentos aplicados, com nível de significância (p) igual a 0,0001 e 0,0002, respectivamente (Tabela 5.2).

Tabela 5.2 - Avaliação da eficiência da PDT para UFCt e UFCpig nos dois períodos analisados (Inicial e 6 semanas).

Análise	Período Avaliado	(p)
Eficiência da PDT	GPDT UFCt Inicial Pré - GPDT UFCt Inicial Pós	0,0001
	GPDT UFCt 6ª semana Pré - GPDT UFCt 6ª semana Pós	0,0002
	GPDT UFCpig Inicial Pré - GPDT UFCpig Inicial Pós	0,0051
	GPDT UFCpig 6ª semana Pré - GPDT UFCpig 6ª semana Pós	0,0113

A quantidade de UFCpig nos GC e GPDT (antes e após a terapia) no período inicial e na 6ª semana, é demonstrada no gráfico 5.2.

Gráfico 5.2 - Gráfico de bloxpot da quantidade de UFCpig/ml, dos GC e GPDT (antes e após a terapia).

Houve uma redução, estatisticamente significante, para os dois momentos aplicados, com p igual 0,0051 e 0,0113, respectivamente, para os períodos inicial e 6ª semana (Tabela 5.2).

5.1.2 Análise do crescimento bacteriano do período inicial para 6ª semana, dos GC e GPDT, e comparação entre grupos

Houve aumento, estatisticamente significante, da quantidade de UFCt do período inicial para 6ª semana com $p=0,0001$ em ambos os grupos (Tabela 5.3). Porém, para as UFCpig o aumento só foi estatisticamente significante para o GC ($p=0,0044$). O GPDT apresentou aumento do número de UFCpig, no período avaliado, contudo este não foi estatisticamente significante ($p=0,0747$) (Tabela 5.3).

Tabela 5.3 - Avaliação do aumento das UFCt e UFCpig nos dois períodos analisados (Inicial e 6ª semanas)

Análise	Período Avaliado	(p)
Crescimento UFCt	GC UFCt Inicial - GC UFCt 6ª semanas	0,0001
	GPDT UFCt Inicial Pré - GPDT UFCt 6ª semanas Pré	0,0001
Crescimento UFCpig	GC UFCpig Inicial - GC UFCpig 6ª semanas	0,0044
	GPDT UFCpig Inicial Pré - GPDT UFCpig 6ª semanas Pré	0,0747

O gráfico 5.3 mostra a diferença entre as UFCt da 6ª semana em relação ao período inicial dos GC e GPDT. As UFCpig é representada pelo gráfico 5.4.

Gráfico 5.3 - Diferença da quantidade de UFCt/ml da 6ª semana em relação ao período inicial, para os dois grupos (GC e GPDT)

Gráfico 5.4 - Diferença da quantidade de UFCpig/ml da 6ª semana em relação ao período inicial, para os dois grupos (GC e GPDT)

A diferença do número de UFCt do pós-cirúrgico imediato para a 6ª semana, no comparativo entre grupos, foi estatisticamente semelhante, com $p=0,588$.

Apesar do aumento do número de UFCpig ser maior no GC em relação ao GPDT, essa diferença não foi estatisticamente significativa ($p=0,270$).

Tabela 5.3 - Comparação entre grupos, do aumento das UFCt e UFCpig entre os dois períodos analisados (Inicial e 6ª semana).

Diferença entre a 6ª semana e período inicial	(p)
GC - UFCt x GPDT - UFCt	0,588
GC - UFCpig x GPDT - UFCpig	0,270

5.2 Resultados radiográficos

A partir dos resultados obtidos foram realizadas médias aritméticas dos valores mesiais e distais de cada sujeito de pesquisa para cada tempo analisado e subtraído 1,8mm, referente ao colarinho polido do implante Straumann® (Tabela 5.4 e Gráfico 5.5).

Antes da comparação intra e entre os grupos, os dados foram testados quanto à sua distribuição, que se mostrou anormal, indicando a utilização de testes não paramétricos.

O teste de Friedman foi utilizado para a análise intra grupos ao longo do tempo.

Para a comparação entre os grupos, o teste escolhido foi o de Mann–Whitney.

Todas as análises foram realizadas com o *software* estatístico Minitab, versão 16.0. O nível de significância foi estabelecido em 5% ($p=0,05$).

Tabela 5.4 - Medidas da distância entre ombro do implante e o primeiro contato osso implante, subtraído 1,8mm (DIO), para os dois grupos nos diferentes tempos de análise.

Grupos	Tempos	N	Média	Erro Padrão	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo
GC	Inicial	20	-0,042	0,141	0,629	-1.116	-0,079	1.628
	6ª semana	20	0,301	0,152	0,679	-0,752	0,284	1.793
	Instalação	20	0,69	0,172	0,77	-0,59	0,589	2.315
	6 meses	20	0,809	0,182	0,816	-0,394	0,607	2.894
	1 ano	20	0,964	0,185	0,827	-0,282	0,764	3.048

Grupos	Tempos	N	Média	Erro Padrão	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo
GPDT	Inicial	20	-0,109	0,122	0,546	-1.038	-0,194	1.169
	6ª semana	20	0,333	0,126	0,565	-0,775	0,253	1.622
	Instalação	20	0,729	0,13	0,582	-0,185	0,598	1.595
	6 meses	20	0,957	0,127	0,569	-0,055	0,778	1.914
	1 ano	20	0,922	0,149	0,667	-0,11	0,808	2.084

Gráfico 5.5 - Medidas, em milímetros, da DIO obtidas para os dois grupos (GC e GPDT), nos tempos avaliados.

5.2.1 Análise intra grupo- GC e GPDT

Para o GC, os resultados apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os tempos: inicial contra instalação, 6 meses e 1 ano; e entre 6 semanas contra 6 meses e 1 ano (Tabela 5.5). O mesmo foi observado para o GPDT (Tabela 5.6).

Tabela 5.5 Estatística descritiva do GC. MC- Análise par a par, as letras iguais não apresentam diferença estatisticamente significante

GC	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	MC
Inicial	20	-0,042	0,629	-1,116	1,628	A
6 ^a semana	20	0,301	0,679	-0,752	1,793	A,B
Instalação	20	0,690	0,770	-0,590	2,315	B,C
6 meses	20	0,809	0,816	-0,394	2,894	C
1 ano	20	0,964	0,827	-0,282	3,048	C

Tabela 5.6 Estatística descritiva do GPDT. MC- Análise par a par, as letras iguais não apresentam diferença estatisticamente significante

GPDT	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	MC
inicial	20	-0,109	0,546	-1,038	1,169	A
6 ^a semana	20	0,333	0,565	-0,775	1,622	A,B
Instalação	20	0,729	0,582	-0,185	1,595	B,C
6 meses	20	0,957	0,569	-0,055	1,914	C
1 ano	20	0,922	0,667	-0,110	2,084	C

5.2.2 Análise entre grupos- GC e GPDT

Não houve diferença estatisticamente significante entre a diferença de todos os tempos analisados, os valores de p são apresentados na Tabela 5.7

Tabela 5.7 Análise estatística de comparação entre os grupos. N- número de amostras, p- nível de significância

Período avaliado	N	Média da diferença	p
GPDT inicial a 6 ^a Semana	20	0,31	0,30
GC inicial a 6 ^a Semana	20	0,20	
GPDT Inicial a 1 ano	20	0,99	0,62
GC Inicial a 1 ano	20	0,94	
GPDT Instalação a 6 meses	20	0,16	0,12
GC Instalação a 6 meses	20	0,05	
GPDT Instalação a 1 ano	20	0,18	0,86
GC Instalação a 1 ano	20	0,16	

5.3 Resultados das avaliações periimplantares

Nenhuma das amostras apresentaram índice 3 para IP e SS. Índice de placa dois foi encontrado em apenas quatro amostras em cada grupo (três na 6ª semana e uma no período de 6 meses- GC e duas na 6ª semana e duas no período de 6 meses- GPDT). O SS escore dois apareceu em apenas três e duas amostras, respectivamente para os GC e GPDT (duas na 6ª semana e uma no período de 1 ano- GC e uma na 6ª semana e uma no período de 1 ano- GPDT). Devido a esta condição as análises estatísticas avaliaram a presença ou ausência de placa ou sangramento a sondagem. Não houveram diferenças estatisticamente significantes tanto para o IP quanto para o SS entre grupos. Na análise intra grupo só existiu diferença entre os período de 6ª semana e os outros períodos para os dois grupos (Tabela 5.8).

Tabela 5.8 Porcentagem de amostras com presença (IP) e sangramento a sondagem(SS) para os GC e GPDT na 6ª semana, 6 meses e 1 ano

Grupo	Avaliação	6ª semana	6 meses	1 ano
GC	IP	55%	40%	45%
GPDT	IP	60%	50%	45%
GC	SS	45%	10%	20%
GPDT	SS	40%	5%	15%

6 DISCUSSÃO

Esse ensaio clínico utilizou o modelo de estudo de boca dividida por permitir que cada sujeito de pesquisa fosse o controle dele mesmo, reduzindo a variabilidade e os vieses de pesquisa a níveis mínimos. Outro ponto se deve aos rígidos critérios de inclusão e exclusão, uma vez que cigarro, saúde geral sistêmica debilitada, o uso de medicação regular e a presença acentuada de microrganismos periodontopatogênicos são fatores que ainda apresentam controvérsias na literatura quanto à sua influência, tanto nas doenças periimplantares quanto periodontais (Rutar et al., 2001).

A exclusão de pacientes que não apresentavam mucosa queratinizada ao redor dos implantes foi instituída, devido ao seu menor teor de fibras de colágeno e da presença de fibras elásticas que favorecem a perda de adesão e maior recessão gengival do que a queratinizada, em situação de acúmulo similar de placa bacteriana (Warrer et al., 1995; Weber; Cochran, 1998). Portanto, a presença de mucosa queratinizada fornece um selamento tecidual frente ao desafio bacteriano.

No presente estudo, a coleta microbiológica constatou a presença de bactérias periodontopatogênicas, tanto no período inicial quanto na 6ª semana. Resultado corroborado pelos trabalhos de Quirynen et al. (2005); Quirynen et al. (2006); Furst et al. (2007) e Barboza et al. (2002), nos quais as coletas microbiológicas foram realizadas durante o processo de cicatrização tecidual. Esta presença bacteriana estava presente, provavelmente, devido à exposição dos implantes à cavidade oral, formando inicialmente uma película adquirida, a partir de biopolímeros salivares que recobrem sua superfície (Hannig, 1997). Essa película forma a interface entre a superfície do implante e os microorganismos iniciais, por exemplo, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguis* e *Streptococcus oralis*. Estes microrganismos criam as pré-condições para a adesão de periodontopatógenos como *Hamophilus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola* ou *Tannerella forsythensis*, que podem induzir à periimplantite, com inflamação e destruição óssea (Quirynen et al., 2002). Ao contrário dos resultados obtidos por Heuer et al. (2007), que analisaram a formação do biofilme bacteriano sobre pilares protéticos com os tecidos periimplantares

devidamente cicatrizados, assim como no estudo de Botero et al. (2005), no qual pesquisaram a microbiota subgengival ao redor de implantes saudáveis, com pelo menos um ano de função. Nestes dois trabalhos a coleta microbiológica ocorreu na presença de um epitélio queratinizado oral bem encerrado na crista da margem gengival. Supõe-se que a gengiva periimplantar tem o potencial natural para prevenir a formação de biofilme subgengival e para responder ao acúmulo de biofilme inicial (Apse et al., 1989; Berglundh et al., 1992; Bollen et al., 1997; Rasperini et al., 1998).

Isso sugere que a presença do coágulo sanguíneo e, posteriormente, a barreira tecidual periimplantar imatura não são suficientes para promover uma eficiente proteção contra a colonização de bactérias periodontopatogênicas. Berglundh et al. (2007), em um estudo com cães, mostraram que essa barreira epitelial leva em torno de 6 a 8 semanas para estar devidamente formada, período maior que a osteointegração dos implantes. Assim, a osteointegração acontece sem que a devida proteção esteja instalada.

Atualmente, buscam-se meios de descontaminação alternativos e a PDT desponta como uma das terapias de grande destaque na literatura com resultados animadores (Dobson; Wilson, 1992; Wilson, 1994; Usacheva et al., 2001; Dortbudak et al., 2001; Yilmaz et al., 2002; Shibli et al., 2003; Chan; Lai, 2003; Pfitzner et al., 2004; Gad et al., 2004; Hayek et al., 2005; Sigusch et al., 2005; Shibli et al., 2006; Andersen et al., 2007; Braun et al., 2008; Marotti et al., 2013). Porém, ainda não existe um consenso sobre os parâmetros utilizados, seja para o laser, como para o corante.

Nessa pesquisa, o protocolo proposto mostrou uma ótima ação para a redução bacteriana, tanto na avaliação inicial quanto na 6ª semana, ao agir sobre as UFCt e UFCpig.

A ação da PDT no período inicial foi estatisticamente eficiente na descontaminação do sulco periimplantar. Isto se deve, provavelmente, ao menor número de bactérias presentes na primeira aplicação, que favorece a ação do fotossensibilizador sobre os microorganismos, melhorando a eficiência da terapia. Ainda sobre o período inicial, muitos autores relatam que a presença de sangue e fluidos gengivais prejudica a atuação da PDT por oferecer “proteção” às bactérias contra a terapia (Komerik; Wilson, 2002; Matevski et al., 2003). Todavia, nesse estudo, a abundância de sangue no pós-cirúrgico imediato não impediu a descontaminação, tanto das UFCt e UFCpig, onde as pigmentadas tiveram uma

redução de aproximadamente 100%. Dessa forma, mais estudos se fazem necessários para averiguar a atuação da PDT sobre uma maior quantidade e/ou melhor organização das bactérias sob as mesmas condições.

Na 6ª semana, a PDT também se mostrou eficiente para os dois grupos analisados. Apesar do maior número de UFC, devido ao crescimento bacteriano, provavelmente já organizado em um biofilme mais estabelecido, isto não dificultou a penetração do corante. Novamente a ação sobre as UFCpig atingiu quase 100% de redução. A mesma proporção na redução foi encontrada por outros autores em estudos *in vitro* e *in vivo* (Dortbudak et al., 2001; Komerik et al., 2003; Chan; Lai, 2003; Yamada Junior, 2007). Isto ocorre pelo fato de as bactérias pigmentadas (ex: *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermédia*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, e *Actinomyces odontolyticus*) possuírem cromóforos endógenos, que dispensam a utilização de um agente fotossensibilizador adicional para que a PDT ocorra. Portanto, a simples irradiação com laser de emissão vermelha destrói esses microorganismos (Konig et al., 2000; Nussbaum et al., 2002; Chan; Lai, 2003).

Quanto aos resultados, ao longo do tempo, o presente estudo mostrou que ocorre um aumento, estatisticamente significante, do número de UFCt nos dois grupos (GC e GPDT) do período inicial para a 6ª semana, mostrando que existe uma contaminação crescente do sulco periimplantar durante o processo de cicatrização. Isto é corroborado pelos trabalhos de Quirynen et al. (2005); Quirynen et al. (2006) e Furst et al. (2007). Já para as UFCpig, o aumento só foi estatisticamente significante para o GC, demonstrando que o protocolo da PDT aplicado foi eficiente para controlar o crescimento bacteriano.

Ao comparar o crescimento das UFCt e UFCpig entre os grupos (GC e GPDT), apesar de sempre ser maior no GC, não há diferença estatisticamente significantes entre eles.

Quanto à condição dos tecidos moles, a luz não absorvida pela PDT pode ser espalhada e absorvida por cromóforos dos tecidos periimplantares adjacentes e promover: efeito analgésico; modulação da inflamação, diminuindo os sinais inflamatórios e do sangramento a sondagem; aceleração do processo de reparação do tecido gengival e ósseo; e aumento da vascularização (Espinosa, 1999; Lopes, 2000; Silva Neto, 2004; Lima et al., 2004; Sigusch et al., 2005; Berglundh et al., 1994; Shibli et al., 2006; de Oliveira et al. 2007; Andersen et al., 2007). Este efeito

não promoveu diferença no IP nem no SS entre os grupos testados. Os valores apresentados demonstram que durante todo experimento existiu saúde periimplantar, reduzindo, desta forma, um viés da pesquisa.

Implantes SLA podem ser carregados com segurança entre seis e oito semanas e mesmo assim apresentarem uma taxa de sucesso próxima de 99% em períodos de avaliação de até 5 anos (Roccuzzo et al., 2001; Roccuzzo; Wilson, 2002; Cochran et al., 2002; Bornstein et al., 2003, 2005). Neste trabalho, a taxa de sucesso foi de 100% durante o período de avaliação (15 meses).

A análise de SRD promove alta sensibilidade e permite o diagnóstico e detecção de alterações ósseas periodontais ou peri-implantares (Wenzel et al., 1992; Hänggi et al., 2005; Jung et al., 2008; Cochran et al., 2009; De Moraes et al., 2009). No entanto, esta técnica é crítica no quesito desvio da geometria de projeção e alinhamento (Eickholz et al., 2007). Neste estudo, o controle da geometria foi possível graças ao dispositivo confeccionado de maneira individualizada para cada amostra, permitindo que o alinhamento e manipulação fossem adequadas pelo programa de computador utilizado para realizar a mensuração das imagens.

A avaliação radiográfica mostrou que existe uma perda da crista óssea crescente do período inicial até a instalação da prótese, que se mantém estável após um ano de função mastigatória para os dois grupos. A média da perda óssea, do período inicial até a instalação da prótese, foi de 0,73mm para o GC e de 0,84mm GPDT. Durante o período de função (da Instalação a 1 ano em função oclusal) as médias de perda óssea foram 0,27mm e 0,19mm, respectivamente, para os GC e GPDT. Estes valores são corroborados por inúmeros trabalhos científicos (Barboza et al., 2002; Cochran et al., 2002, 2007; Roccuzzo et al., 2001, 2002; Bornstein et al., 2003, 2005; Salvi et al., 2004).

Na comparação entre grupos não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre as diferenças de todos os períodos, seja durante a osteointegração, quanto do período de função protética. Os valores do nível de significância da diferença de 6 semanas e inicial, 6 meses e instalação, 1 ano e instalação, e 1 ano e inicial, foram, respectivamente, $p= 0,30$; $0,12$; $0,86$; e $0,62$.

Dentro das limitações deste estudo, conclui-se que o GPDT não promoveu uma manutenção da crista óssea periimplantar estatisticamente melhor, quando comparado ao GC. Porém, mais estudos se fazem necessários para uma

compreensão mais refinada da influência bacteriana na manutenção da crista óssea periimplantar.

7 CONCLUSÃO

A terapia fotodinâmica é eficiente para redução das UFCt e UFCpig, presentes no sulco periimplantar, durante a osteointegração.

A PDT não impede a recolonização, nem o crescimento bacteriano ao longo do tempo. Contudo, foi eficiente no controle das UFCpig, mantendo estatisticamente a quantidade de bactérias, durante a osteointegração.

O GPDT não promoveu melhor manutenção da crista óssea periimplantar quando comparado ao GC.

REFERÊNCIAS¹

Abrahamsson I, Berglundh T, Moon IS, Lindhe J. Peri-implant tissues at submerged and non-submerged titanium implants. *J Clin Periodontol*. 1999 Sep;26(9):600-7.

Aglietta M, Siciliano VI, Rasperini G, Cafiero C, Lang NP, Salvi GE. A 10-year retrospective analysis of marginal bone-level changes around implants in periodontally healthy and periodontally compromised tobacco smokers. *Clin Oral Implants Res*. 2011 Jan;22(1):47-53.

Albrektsson T, Brånemark PI, Hansson HA, Lindström J. Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. *Acta Orthop Scand*. 1981;52:155–70.

Albrektsson T, Zarb G, Worthington P, Eriksson RA. The longterm efficacy of currently used dental implants: a review and proposed criteria of success. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1986;1:11-25.

Andersen R, Loebel N, Hammond D, Wilson M. Treatment of periodontal disease by photodisinfection compared to scaling and root planing. *J Clin Dent*. 2007;18(2):34-8.

Apse P, Ellen RP, Overall CM, Zarb GA. Microbiota and crevicular fluid collagenase activity in the osseointegrated dental implant sulcus: a comparison of sites in edentulous and partially edentulous patients. *J Periodontal Res*. 1989 Mar;24(2):96-105.

Barboza EP, Caula AL, Carvalho WR. Crestal bone loss around submerged and exposed unloaded dental implants: a radiographic and microbiological descriptive study. *Implant Dent*. 2002;11(2):162-9.

Bassetti M, Schär D, Wicki B, Eick S, Ramseier CA, Arweiler NB, Sculean A, Salvi GE. Anti-infective therapy of peri-implantitis with adjunctive local drug delivery or photodynamic therapy: 12-month outcomes of a randomized controlled clinical trial. *Clin Oral Implants Res*. 2014 Mar;25(3):279-87.

¹ De acordo com Estilo Vancouver.

Berglundh T, Lindhe J. Dimension of the peri-implant mucosa. Biological width revisited. *J Clin Periodontol*. 1996;21:189-93.

Berglundh T, Abrahamsson I, Welander M, Lang NP, Lindhe J. Morphogenesis of the peri-implant mucosa: an experimental study in dogs. *Clin Oral Implants Res*. 2007 Feb;18(1):1-8.

Berglundh T, Lindhe J, Marinello C, Ericsson I, Liljenberg B. Soft tissue reaction to de novo plaque formation on implants and teeth. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res*. 1992 Mar;3(1):1-8.

Berglundh T, Lindhe J, Jonsson K, Ericsson I. The topography of the vascular systems in the periodontal and peri-implant tissues in the dog. *J Clin Periodontol*. 1994 Mar;21(3):189-93.

Bhatti M, MacRobert A, Meghji S, Henderson B, Wilson M. Effect of dosimetric and physiological factors on the lethal photosensitization of *Porphyromonas gingivalis* in vitro. *Photochem Photobiol*. 1997 Jun;65(6):1026-31.

Bombeccari GP, Guzzi G, Gualini F, Gualini S, Santoro F, Spadari F. Photodynamic therapy to treat periimplantitis. *Implant Dent*. 2013 Dec;22(6):631-8.

Bollen CM, Lambrechts P, Quirynen M. Comparison of surface roughness of oral hard materials to the threshold surface roughness for bacterial plaque retention: a review of the literature. *Dent Mater*. 1997 Jul;13(4):258-69.

Bornstein MM, Lussi A, Schmid B, Belser UC, Buser D. Early loading of titanium implants with a sandblasted and acid-etched (SLA) surface: 3-year results of a prospective study in partially edentulous patients. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2003 Sep-Oct; 18(5):659–66.

Bornstein MM, Schmid B, Belser UC, Lussi A, Buser D. Early loading of titanium implants with a sandblasted and acidetched surface: 5-year results of a prospective study in partially edentulous patients. *Clin Oral Implants Res* 2005; 16:631–638.

Botero JE, Gonzalez AM, Mercado RA, Olave G, Contreras A. Subgingival microbiota in peri-implant mucosa lesions and adjacent teeth in partially edentulous patients. *J Periodontol*. 2005 Sep;76(9):1490-5.

Brägger U, Bürgin W, Fourmouis I, Schmid G, Schild U, Lang NP. Computerassisted densitometric image analysis of digital subtraction images: in vivo error of the method and effect of thresholding. *J Periodontol*. 1998;69:967-74.

Brägger U. Radiographic parameters for the evaluation of peri-implant tissues. *Periodontol 2000*. 1994;4:87-97.

Braun A, Dehn C, Krause F, Jepsen S. Short-term clinical effects of adjunctive antimicrobial photodynamic therapy in periodontal treatment: a randomized clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2008 Oct;35(10):877-84.

Byrd V, Mayfield-Donahoo T, Reddy MS, Jeffcoat MK. Semiautomated image registration for digital subtraction radiography. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998;85(4-6):473-8.

Chan Y, Lai CH. Bactericidal effects of different laser wavelengths on periodontopathic germs in photodynamic therapy. *Lasers Med Sci*. 2003;18(1):51-5.

Cochran DL, Buser D, ten Bruggenkate CM. The use of reduced healing times on ITI implants with a sandblasted and acid-etched (SLA) surface: early results from clinical trials on ITI SLA implants. *Clin Oral Implants Res* 2002; 13:144-153.

Cochran D, Oates T, Morton D, Jones A, Buser D, Peters F. Clinical field trial examining an implant with a sand-blasted, acid-etched surface. *J Periodontol* 2007; 78:974-982.

Cochran DL, Nummikoski PV, Schoolfield JD, Jones AA, Oates TW. A prospective multicenter 5-year radiographic evaluation of crestal bone levels over time in 596 dental implants placed in 192 patients. *J Periodontol*. 2009; 80:725-33.

Consolaro A, Carvalho RS, Francischone CE Jr, Francischone CE. Mecanismo da saucerização nos implantes osseointegrados. *Rev Dental Press Periodontia Implantol*. 2009;3:25-39.

Cortellini P, Paolo G, Prato P, Tonetti MS. Long-term stability of clinical attachment following guided tissue regeneration and conventional therapy. *J Clin Periodontol*. 1996 Feb;23(2):106-11.

Cortellini P, Pini-Prato G, Tonetti M. Periodontal regeneration of human infrabony defects (V). Effect of oral hygiene on long-term stability. *J Clin Periodontol*. 1994 Oct;21(9):606-10.

Covani U, Marconcini S, Crespi R, Barone A. Bacterial plaque colonization around dental implant surfaces. *Implant Dent*. 2006 Sep;15(3):298-304.

Cury PR, Sendyk WR, Sallum AW. Etiologia da falha de implantes osseointegrados. . *Rev Bras Odontol*. 2003 maio-jun.;60(3):192-5.

de Almeida JM, Garcia VG, Theodoro LH. Terapia fotodinâmica: uma opção na terapia periodontal. *Arq odontol*. 2006 jul.-set.;42(3):199-210.

De Boever AL, De Boever JA. Early colonization of non-submerged dental implants in patients with a history of advanced aggressive periodontitis. *Clin Oral Implants Res*. 2006 Feb;17(1):8-17.

de Leita JA, De Lorenzo JL, Avila-Campos MJ, Sendyk WR. Analysis of the presence of pathogens which predict the risk of disease at peri-implant sites through polymerase chain reaction (PCR). *Braz Oral Res*. 2005 Jan-Mar;19(1):52-7.

De Lorenzo JL, Simionato MRL, De Lorenzo A. Infecção: principal causa de insucessos em implantes dentários. *Rev ABO Nac*. 1997 out.-nov.;5(5):321-4.

De Moraes JAND, Trindade-Suedam IK, Pepato MT, Marcantonio E Jr, Wenzel A, Scaf G. Effect of diabetes mellitus and insulin therapy on bone density around osseointegrated dental implants: a digital subtraction radiography study in rats. *Clin Oral Implants Res*. 2009;20:796–801.

de Oliveira RR, Schwartz-Filho HO, Novaes AB, Jr., Taba M, Jr. Antimicrobial photodynamic therapy in the non-surgical treatment of aggressive periodontitis: a preliminary randomized controlled clinical study. *J Periodontol*. 2007 Jun;78(6):965-73.

Dobson J, Wilson M. Sensitization of oral bacteria in biofilms to killing by light from a low-power laser. *Arch Oral Biol*. 1992 Nov;37(11):883-7.
Dortbudak O, Haas R, Bernhart T, Mailath-Pokorny G. Lethal photosensitization for decontamination of implant surfaces in the treatment of peri-implantitis. *Clin Oral Implants Res*. 2001 Apr;12(2):104-8.

Eickholz P, Krigar D-M, Kim T-S, Reitmeir P, Rawlinson A. Stability of clinical and radiographic results after guided tissue regeneration in infrabony defects. *J Periodontol*. 2007;78:37–46.

Ericsson I, Persson LG, Berglundh T, Marinello CP, Lindhe J, Klinge B. Different types of inflammatory reactions in peri-implant soft tissues. *J Clin Periodontol*. 1995 Mar;22(3):255-61.

Espinosa CR. Reparação de feridas cutâneas submetidas ao tratamento com laser ou com solução fotossensibilizadora associada ao laser de bioestimulação: estudo histológico em ratos [dissertação] Marília: Faculdade de Ciências Odontológicas, Universidade de Marília; 1999.

Esposito M, Hirsch J, Lekholm U, Thomsen P. Differential diagnosis and treatment strategies for biologic complications and failing oral implants: a review of the literature. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1999 Jul-Aug;14(4):473-90.

Esposito M, Thomsen P, Ericson LE, Lekholm U. Histopathologic observations on early oral implant failures. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1999 Nov-Dec;14(6):798-810.

Furst MM, Salvi GE, Lang NP, Persson GR. Bacterial colonization immediately after installation on oral titanium implants. *Clin Oral Implants Res*. 2007 Aug;18(4):501-8.

Gad F, Zahra T, Hasan T, Hamblin MR. Effects of growth phase and extracellular slime on photodynamic inactivation of gram-positive pathogenic bacteria. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004 Jun;48(6):2173-8.

Hänggi MP, Hänggi DC, Schoolfield JD, Meyer J, Cochran DL, Hermann JS. Crestal bone changes around titanium implants. part I: a retrospective radiographic evaluation in humans comparing two non-submerged implant designs with different machined collar lengths. *J Periodontol*. 2005;76:791-802.

Hannig M. Transmission electron microscopic study of in vivo pellicle formation on dental restorative materials. *Eur J Oral Sci*. 1997 Oct;105(5 Pt 1):422-33.

Hardstedt Ch, Welander U. Photographic subtraction. Theory of the subtraction image. *Acta Radiologica Diagnosis* 1974;16(6):559-64.

Hayek RR, Araujo NS, Gioso MA, Ferreira J, Baptista-Sobrinho CA, Yamada AM, et al. Comparative study between the effects of photodynamic therapy and conventional

therapy on microbial reduction in ligature-induced peri-implantitis in dogs. *J Periodontol.* 2005 Aug;76(8):1275-81.

Hermann JS, Cochran DL, Nummikoski PV, Buser D. Crestal bone changes around titanium implants. A radiographic evaluation of unloaded nonsubmerged and submerged implants in the canine mandible. *J Periodontol.* 1997 Nov;68(11):1117-30.

Heuer W, Elter C, Demling A, Neumann A, Suerbaum S, Hannig M, et al. Analysis of early biofilm formation on oral implants in man. *J Oral Rehabil.* 2007 May;34(5):377-82.

Jeffcoat MK, Jeffcoat RL, Willimas RC. A new method for the comparison of bone loss measurements on non-standardized radiographs. *J Periodontal Res* 1984;19(4-6):434-40.

Jeffcoat MK, Webber RL, Reddy M, Williams RC. Digital subtraction radiology without stents [abstract 57]. *J Dent Res* 1985;65:176.

Jeffcoat M K. Radiographic methods for the detection of progressive alveolar bone loss. *J Periodontol* 1992;63:367-72.

Jori G, Fabris C, Soncin M, Ferro S, Coppelotti O, Dei D, et al. Photodynamic therapy in the treatment of microbial infections: basic principles and perspective applications. *Lasers Surg Med.* 2006 Jun;38(5):468-81.

Jung RE, Jones AA, Higginbottom FL, Wilson TG, Schoolfield J, Buser D, et al. The influence of non-matching implant and abutment diameters on radiographic crestal bone levels in dogs. *J Periodontol.* 2008;79:260-70

Komerik N, Nakanishi H, MacRobert AJ, Henderson B, Speight P, Wilson M. In vivo killing of *Porphyromonas gingivalis* by toluidine blue-mediated photosensitization in an animal model. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003 Mar;47(3):932-40.

Komerik N, Wilson M. Factors influencing the susceptibility of Gram-negative bacteria to toluidine blue O-mediated lethal photosensitization. *J Appl Microbiol.* 2002;92(4):618-23.

König K, Teschke M, Sigusch B, Glockmann E, Eick S, Pfister W. Red light kills bacteria via photodynamic action. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. 2000 Nov;46(7):1297-303.

Lang NP, Wetzel AC, Stich H, Caffesse RG. Histologic probe penetration in healthy and inflamed peri-implant tissues. *Clin Oral Implants Res*. 1994 Dec;5(4):191-201.
Leonhardt A, Renvert S, Dahlen G. Microbial findings at failing implants. *Clin Oral Implants Res*. 1999 Oct;10(5):339-45.

Lima MA, Theodoro LH, Okamoto T, Milanezi LA, Garcia VG. A histologic assessment of the low level therapy associated with photosensitizing drug on impaired wound healing in rats. *Brazilian Dent J*. 2004;15(113).

Lopes JR. Reparação de feridas de extração dental, infectadas, tratadas com droga fotossensibilizadora associada ou não ao laser de baixa intensidade. [dissertação] Araçatuba Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" Câmpus de Araçatuba. 2000.

Maisch T. Anti-microbial photodynamic therapy: useful in the future? *Lasers Med Sci*. 2007 Jun;22(2):83-91.

Marotti J, Tortamano P, Cai S, Ribeiro MS, Franco JE, de Campos TT. Decontamination of dental implant surfaces by means of photodynamic therapy. *Lasers Med Sci*. 2013 Jan;28(1):303-9.

Martin JP, Logsdon N. The role of oxygen radicals in dye-mediated photodynamic effects in *Escherichia coli* B. *J Biol Chem*. 1987 May 25;262(15):7213-9.

Matevski D, Weersink R, Tenenbaum HC, Wilson B, Ellen RP, Lepine G. Lethal photosensitization of periodontal pathogens by a red-filtered Xenon lamp in vitro. *J Periodontal Res*. 2003 Aug;38(4):428-35.

Meisel P, Kocher T. Photodynamic therapy for periodontal diseases: state of the art. *J Photochem Photobiol B*. 2005 May 13;79(2):159-70.

Miyamoto S, Ronsein GE, Prado FM, Uemi M, Correa TC, Toma IN, et al. Biological hydroperoxides and singlet molecular oxygen generation. *IUBMB Life*. 2007 Apr-May;59(4-5):322-31.

Mombelli A, van Oosten MA, Schurch E, Jr., Land NP. The microbiota associated with successful or failing osseointegrated titanium implants. *Oral Microbiol Immunol*. 1987 Dec;2(4):145-51.

Moon IS, Berglundh T, Abrahamsson I, Linder E, Lindhe J. The barrier between the keratinized mucosa and the dental implant. An experimental study in the dog. *J Clin Periodontol*. 1999 Oct;26(10):658-63.

Morton D, Bornstein MM, Wittneben JG, Martin WC, Ruskin JD, Hart CN, Buser D. Early loading after 21 days of healing of nonsubmerged titanium implants with a chemically modified sandblasted and acid-etched surface: two-year results of a prospective two-center study. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2010 Mar;12(1):9-17.

Nicopoulou-Karayianni K, Brägger U, Bürgin W, Nielsen PM, Niklaus PL. Diagnosis of alveolar bone changes with digital subtraction images and conventional radiographs. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1991;72:251-6.

Nicopoulou-Karayianni K, Bragger U, Lang NP. Subtraction radiography in oral implantology. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 1997 Jun;17(3):220-31.

Novaes AB, Jr., Papalexiou V, Muglia V, Taba M, Jr. Influence of interimplant distance on gingival papilla formation and bone resorption: clinical-radiographic study in dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2006 Jan-Feb;21(1):45-51.

Nussbaum EL, Lilge L, Mazzulli T. Effects of 630-, 660-, 810-, and 905-nm laser irradiation delivering radiant exposure of 1-50 J/cm² on three species of bacteria in vitro. *J Clin Laser Med Surg*. 2002 Dec;20(6):325-33.

O'Mahony A, MacNeill SR, Cobb CM. Design features that may influence bacterial plaque retention: a retrospective analysis of failed implants. *Quintessence Int*. 2000 Apr;31(4):249-56.

Ochsner M. Photophysical and photobiological processes in the photodynamic therapy of tumours. *J Photochem Photobiol B*. 1997 May;39(1):1-18.

Pfitzner A, Sigusch BW, Albrecht V, Glockmann E. Killing of periodontopathogenic bacteria by photodynamic therapy. *J Periodontol*. 2004 Oct;75(10):1343-9.

Pjetursson BE, Helbling C, Weber HP, Matuliene G, Salvi GE, Brägger U, Schmidlin K, Zwahlen M, Lang NP. Peri-implantitis susceptibility as it relates to periodontal therapy and supportive care. *Clin Oral Implants Res.* 2012 Jul;23(7):888-94.

Prates RA, Yamada AM, Jr., Suzuki LC, Eiko Hashimoto MC, Cai S, Gouw-Soares S, et al. Bactericidal effect of malachite green and red laser on *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Photochem Photobiol B.* 2007 Jan 3;86(1):70-6.

Quirynen M, De Soete M, van Steenberghe D. Infectious risks for oral implants: a review of the literature. *Clin Oral Implants Res.* 2002 Feb;13(1):1-19.

Quirynen M, Vogels R, Pauwels M, Haffajee AD, Socransky SS, Uzel NG, et al. Initial subgingival colonization of 'pristine' pockets. *J Dent Res.* 2005 Apr;84(4):340-4.

Quirynen M, Vogels R, Peeters W, van Steenberghe D, Naert I, Haffajee A. Dynamics of initial subgingival colonization of 'pristine' peri-implant pockets. *Clin Oral Implants Res.* 2006 Feb;17(1):25-37.

Rasperini G, Maglione M, Cocconcelli P, Simion M. In vivo early plaque formation on pure titanium and ceramic abutments: a comparative microbiological and SEM analysis. *Clin Oral Implants Res.* 1998 Dec;9(6):357-64.

Roccuzzo M, Bunino M, Prioglio F, Bianchi SD. Early loading of sandblasted and acid-etched (SLA) implants: a prospective split-mouth comparative study. *Clin Oral Implants Res.* 2001 Dec;12(6):572-8.

Roccuzzo M, Wilson TG. A prospective study evaluating a protocol for 6 weeks' loading of SLA implants in the posterior maxilla. *Clin Oral Implants Res.* 2002; 13:502-7.

Rutar A, Lang NP, Buser D, Burgin W, Mombelli A. Retrospective assessment of clinical and microbiological factors affecting periimplant tissue conditions. *Clin Oral Implants Res.* 2001 Jun;12(3):189-95.

Salvi GE, Gallini G, Lang NP. Early loading (2 or 6 weeks) of sandblasted and acid-etched (SLA) ITI® implants in the posterior mandible. A 1-year randomized controlled clinical trial. *Clin Oral Implants Res.* 2004; 15:142-9.

Shibli JA, Martins MC, Nociti FH, Jr., Garcia VG, Marcantonio E, Jr. Treatment of ligature-induced peri-implantitis by lethal photosensitization and guided bone regeneration: a preliminary histologic study in dogs. *J Periodontol*. 2003 Mar;74(3):338-45.

Shibli JA, Martins MC, Ribeiro FS, Garcia VG, Nociti FH, Jr., Marcantonio E, Jr. Lethal photosensitization and guided bone regeneration in treatment of peri-implantitis: an experimental study in dogs. *Clin Oral Implants Res*. 2006 Jun;17(3):273-81.

Schou S, Holmstrup P, Jørgensen T, Stoltze K, Hjørting-Hansen E, Wenzel A. Autogenous bone graft and ePTFE membrane in the treatment of peri-implantitis. I. Clinical and radiographic observations in cynomolgus monkeys. *Clin Oral Implants Res*. 2003;14:391-403

Sigus BW, Pfitzner A, Albrecht V, Glockmann E. Efficacy of photodynamic therapy on inflammatory signs and two selected periodontopathogenic species in a beagle dog model. *J Periodontol*. 2005 Jul;76(7):1100-5.

Silva Neto UT. Efeito da terapia fotodinâmica no processo de reparação de feridas cutâneas provocadas em ratos diabéticos: estudo morfométrico e histológico. [dissertação] Marília Faculdade de Ciências Odontológicas, Universidade de Marília; 2004.

Soukos NS, Wilson M, Burns T, Speight PM. Photodynamic effects of toluidine blue on human oral keratinocytes and fibroblasts and *Streptococcus sanguis* evaluated in vitro. *Lasers Surg Med*. 1996;18(3):253-9.

Teichert MC, Jones JW, Usacheva MN, Biel MA. Treatment of oral candidiasis with methylene blue-mediated photodynamic therapy in an immunodeficient murine model. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2002 Feb;93(2):155-60.

Tolstunov L. Dental implant success-failure analysis: a concept of implant vulnerability. *Implant Dent*. 2006 Dec;15(4):341-6.

Usacheva MN, Teichert MC, Biel MA. Comparison of the methylene blue and toluidine blue photobactericidal efficacy against gram-positive and gram-negative microorganisms. *Lasers Surg Med*. 2001;29(2):165-73.

van Winkelhoff AJ, Rams TE, Slots J. Systemic antibiotic therapy in periodontics. *Periodontol* 2000. 1996 Feb;10:45-78.

Von Pressentin MdM. Desenvolvimentos recentes sobre doença peri-implante: noções gerais para o clínico. *Rev Bras Odontol*. 1997 mar.-abr.;54(2):76-8.

Wainwright M. Photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT). *J Antimicrob Chemother*. 1998 Jul;42(1):13-28.

Warrer K, Buser D, Lang NP, Karring T. Plaque-induced peri-implantitis in the presence or absence of keratinized mucosa. An experimental study in monkeys. *Clin Oral Implants Res*. 1995 Sep;6(3):131-8.

Webber RL, Ruttimann UE, Gröndahl H. X-ray image subtraction as a basis for assessment of periodontal changes. *J Periodontal Res* 1982;17:509-11.

Weber HP, Buser D, Donath K, Fiorellini JP, Doppalapudi V, Paquette DW, et al. Comparison of healed tissues adjacent to submerged and non-submerged unloaded titanium dental implants. A histometric study in beagle dogs. *Clin Oral Implants Res*. 1996 Mar;7(1):11-9.

Weber HP, Cochran DL. The soft tissue response to osseointegrated dental implants. *J Prosthet Dent*. 1998 Jan;79(1):79-89.

Wenzel A, Warre K, Karring T. Digital subtraction radiography in assessing bone changes in periodontal defects following guided tissue regeneration. *J Clin Periodontol*. 1992;19:208-13.

Wilson M. Bactericidal effect of laser light and its potential use in the treatment of plaque-related diseases. *Int Dent J*. 1994 Apr;44(2):181-9.

Wilson M, Dobson J, Harvey W. Sensitization of oral bacteria to killing by low-power laser radiation. *Curr Microbiol*. 1992 Aug;25(2):77-81.

Yamada Júnior AM. Efeito da terapia fotodinâmica sobre periodontite induzida em ratos. [tese] São Paulo: Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares; 2007.

Yamada Júnior AM, Hayek RRA, Ribeiro MS. O emprego da terapia fotodinâmica (PDT) na redução bacteriana em periodontia e implantodontia. RGO (Porto Alegre). 2004 jul.-set.;52(3):207-10.

Yilmaz S, Kuru B, Kuru L, Noyan U, Argun D, Kadir T. Effect of gallium arsenide diode laser on human periodontal disease: a microbiological and clinical study. Lasers Surg Med. 2002;30(1):60-6.

Zanin ICJ, Brugnera Junior A, Gonçalves RB. Aplicação da terapia fotodinâmica na descontaminação bacteriana. Rev Assoc Paul Cir Dent. 2002 jun.;56(supl):7-11.

Zappa U, Simona C, Graf H, Aken J. In vivo determination of radiographic projection errors produced by a novel filmholder and x-ray beam manipulator. J Periodontol 1991;62(11):674-83.

Zappa U, Simona C, Graf H, Aken J. Time-related changes of in vivo projection errors in standardized radiographs. J Periodontol 1993;64(4):278-84.

ANEXO A - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia
Comitê de Ética em Pesquisa

PARECER DE APROVAÇÃO
FR – 224012
Protocolo 195/08

Com base em parecer de relator, o Comitê de Ética em Pesquisa APROVOU o protocolo de pesquisa **"EFICIÊNCIA DO LASER DE BAIXA POTÊNCIA ASSOCIADO AO CORANTE AZUL DE METILENO NA AÇÃO BACTERICIDA NO SULCO PERIIMPLANTAR DURANTE O PERÍODO DE OSSEOINTEGRAÇÃO DE IMPLANTES DE UM ESTÁGIO CIRÚRGICO"**, de responsabilidade do Pesquisador João Eduardo Miranda Franco, sob orientação da Professora Doutora Tomie Nakakuki de Campos.

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados a este Comitê relatórios anuais referentes ao andamento da pesquisa e ao término cópia do trabalho em "cd". Qualquer emenda do projeto original deve ser apresentada a este CEP para apreciação, de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

São Paulo, 17 de fevereiro de 2009.

Prof. Dr. João Gualberto de Cerqueira Luz
Coordenador do CEP-FOUSP

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia
Comitê de Ética em Pesquisa

DECLARAÇÃO
FR-224012
Protocolo 195/08

Declaramos que o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo recebeu e aceitou o adendo referente alteração do título do projeto de: "Eficiência do laser de baixa potência associado ao corante azul de metileno na ação bactericida no sulco periimplantar durante o período de osseointegração de implantes de um estágio cirúrgico", para: "**Avaliação clínica dos tecidos periimplantares frente à terapia fotodinâmica**"; alteração do objetivo do processo para cicatrização dos tecidos; no item materiais e métodos: redução do número de participantes para 20; realização das instalações dos implantes; avaliação periimplantar, avaliação radiográfica e avaliação das coroas temporárias e definitivas ", de responsabilidade do(a) Pesquisador(a) João Eduardo Miranda Franco sob orientação do(a) Prof(a). Doutor(a). Tomie Nakakuki de Campos.

São Paulo, 29 de junho de 2009.

Prof. Dr. João Gualberto de Cerqueira Luz
Coordenador CEP/FOUSP

ANEXO B - Meio de transporte VMGA III (Viability Médium Göteborg Anaerobically)

Solução	Componentes	Procedimento
A	Tryptose (Difco, Laboratories, EUA)..... 0,5 g Thiotone (BBL, EUA)..... 0,5 g Água destilada 540 mL	Dissolver com agitação e aquecimento
B	Bacto agar 4% (Difco, Laboratories, EUA)..... 2g Água destilada..... 50 mL	Dissolver em fervura
C	Gelatina (Difco, Laboratories, EUA)..... 50 g Água destilada..... 300 mL	Dissolver com agitação e aquecimento até a homogeneização
D	Ácido tioglicólico (Difco, Laboratories, EUA)..0,5 mL	-----
E	Solução de sais de estoque..... 100 mL (posteriormente descrita)	-----
F	L-cisteína HCL (Merck, EUA)..... 0,5 g Água destilada..... 10 mL	Dissolver com suave aquecimento

As soluções de A – E são misturadas na ordem descrita (a temperatura não pode estar menor que 50°C). Depois a mistura é fervida livre de oxigênio sob fluxo de gás carbônico durante 3 minutos. Em seguida, troca-se este gás por nitrogênio. Quando o indicador azul-de-metileno altera sua coloração, deixando a solução mais clara, adiciona-se a solução de cisteína (F) e o pH é ajustado para 7,2. O meio é, então dispensado em frascos que contém pérolas de vidro, onde foi injetado o gás carbônico. Durante este procedimento coloca-se ainda gás nitrogênio dentro dos frascos, para se obter um ambiente livre de oxigênio. Logo após, são firmemente fechados, autoclavados a 115°C durante 20 minutos e armazenados a temperatura ambiente.

Solução de sais de estoque:

Solução	Componentes	Procedimento
1	Acetato de fenil mercúrio-cromo (Merck, EUA)0,005 g Água destilada..... 300 mL	Dissolver por aquecimento e incubar a 50°C durante uma noite
2	Glicerofosfato de sódio hidratado (Merck, EUA) 100 g Água destilada..... 200 mL	Dissolver aquecendo lentamente
3	Cloreto de cálcio hidratado..... 1,6 g Cloreto de potássio..... 4,2 g Cloreto de sódio..... 10,0 g Sulfato de magnésio hidratado..... 1,0 g Água destilada..... 300 mL	Dissolver sob agitação
4	Azul-de-metileno (Merck, EUA)..... 0,03 g	-----

As soluções 1, 2 e 3 são misturadas de modo que não haja precipitação de sais. A seguir, completa-se com água destilada até o volume de 1000mL e adiciona-se o azul-de-metileno. A solução de sais é, então, armazenada em frascos bem fechados, à temperatura ambiente até o momento de uso.

ANEXO C - Água peptonada

Água destilada.....	1000 mL
Tryptone (Difco, Laboratories, EUA).....	2,5 g
Thiotone E-peptone (BBL, EUA).....	2,5 g
Cloreto de sódio (Synth, Brasil).....	5,0 g

Aquecer até dissolver por completo. Ajustar o pH para 7,2. Dispensar em tubos e autoclavar a 121°C durante 25 minutos.

ANEXO D - Ágar Brucella sangue, hemina e menadione

Água destilada.....	950 mL
Ágar Brucella.....	43 g
Extrato de levedura.....	2 g
Autoclavar o meio a 121°C por 15 minutos. Após, resfriar o meio a 45°C, adicionar:	
Solução de hemina.....	1 mL
Solução de menadione.....	0,1 mL
Sangue de carneiro desfibrinado.....	50 mL

Solução de Hemina

Hemina.....	0,5 g
Solução de hidróxido de sódio 1 M.....	10 mL
Água destilada.....	90 mL

Dissolver a hemina na solução de NaOH. Adicionar a água destilada.
Autoclavar a 121°C por 15 minutos.

Solução de Menadione

Menadione.....	0,2 g
Etanol.....	2 mL
Água destilada estéril.....	18 mL

Pesar a menadione em papel alumínio estéril. Adicionar 2 mL de etanol em tubo estéril. Adicionar os 18 mL de água destilada.

ANEXO E - Interpretação do gráfico de Boxplot

Boxplot é uma técnica que mostra graficamente algumas medidas resumo de um conjunto de dados, tais como: média, mediana, valor mínimo, valor máximo, bem como eventuais valores extremos chamados de *outliers*, e representados por um asterisco (*).

A média é indicada por um ponto preto; a mediana (2º quartil) é representada por uma linha horizontal que fica dentro da caixa retangular; os valores dentro da caixa, entre o 1º e o 3º quartil, representam 50% dos dados; os valores mínimo e máximo, na ausência de *outliers*, são aqueles que correspondem ao extremo inferior e superior respectivamente, das linhas verticais que saem das caixas.

APÊNDICE A - Ficha de Anamnese

Data ____/____/____

Dados Pessoais			
Nome:			
Endereço:		nº:	Complemento:
Bairro:		Estado:	CEP:
Tels: Res:	Com:		Cel:
Data de Nascimento:	/	/	Sexo: M F
Profissão:			

Histórico Médico			
Sofre de alguma doença?	Não	Sim	Qual:
É diabético?	Não	Sim	Tempo:
Demora para cicizar?	Não	Sim	
Toma algum medicamento?	Não	Sim	Qual:
Apresenta alguma alergia?	Não	Sim	Condição:
É fumante?	Não	Sim	Tempo e Quantidade por dia:
Gengiva sangra com facilidade?	Não	Sim	Condição:

Histórico Dental	
Como perdeu o dente que será substituído por implante? Cárie Mobilidade Trauma Outros_____	
Já realizou tratamento periodontal?	
Já teve orientação de higiene bucal: não sim Condição:	
Quantas vezes escova por dia?	Tipo de escova- cerdas: macia média dura
Realiza bochechos- não sim Qual Produto utiliza?	Usa fio dental: não sim vezes/dia _____

Histórico Protético	
Portador de prótese: não sim Qual - superior_____ tempo____ / inferior_____ tempo____	
Como higieniza a prótese?:	

Declaro que os itens acima foram explicados e que não tenho nenhuma dúvida sobre estes e assino minha concordância.

Exame Intra Bucal

	18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
Índice Gengival																
Fibromucosa																

	48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38
Índice Gengival																
Fibromucosa																

ÍNDICE GENGIVAL

0 sadia
1 inflamação leve
 suave mudança cor/textura
2 inflamação moderada
 hipertrofia
 sangramento na sondagem
3 inflamação severa
 hipertrofia
 sangramento espontâneo
 ulceração

FIBROMUCOSA

0 firme, rosada
1 inflamação leve

2 inflamação moderada
 alteração de cor/textura
 pontos de sangramento
3 inflamação severa
 alteração de cor/textura
 sangramento espontâneo

Presença de gengiva inserida?

não

sim

Localização do Implante

Inferior

Superior

APÊNDICE B - Consentimento Livre e Esclarecido

As informações contidas neste, foram fornecidas pelos Prof^ª. Dr^ª. Tomie Toyota de Campos e pelo Doutorando João Eduardo Miranda Franco, objetivando firmar acordo por escrito, mediante o qual, o paciente voluntário autoriza a participação, com pleno conhecimento da natureza dos procedimentos e riscos a que se submeterá, com capacidade de livre arbítrio e sem qualquer coação.

1. **Título da pesquisa**

“Influência da terapia fotodinâmica na manutenção da crista óssea alveolar periimplantar.”

2. **Objetivo Principal**

Reduzir as bactérias em torno dos implantes, principalmente as bactérias anaeróbios estritos e facultativos, que são as mais agressivas, favorecendo desta maneira o processo de cicatrização dos tecidos em torno do implante e consequentemente o sucesso na reabilitação oral através de implantes osseointegrados.

3. **Justificativa**

Promover uma melhor condição de cicatrização, o que irá favorecer a qualidade do tratamento e consequentemente o sucesso na reabilitação oral.

4. **Procedimento**

Inicialmente deve-se responder a uma anamnese, para avaliação clínica, com enfoque quando: histórico dental e médico; saúde sistêmica e bucal; uso de medicação regular ou durante a pesquisa. Como critério de exclusão: pacientes com evidências clínicas de gengivite (inflamação da gengiva) ou periodontite (índice gengival e de fibromucosa 2 ou 3 conforme ficha em anexo- exceto nas regiões vizinhas e de instalação do implante onde o critério de exclusão será o índice 3); pacientes que relataram histórico de doença periodontal mesmo que controlado; pacientes com uso regular de qualquer tipo de medicação ou uso de medicação durante a pesquisa.

Todos os pacientes selecionados receberão orientação de higiene bucal (escovação com dentífrico e uso de fio dental) e limpeza mecânica dos dentes. Estes procedimentos profiláticos serão repetidos a cada 3 meses.

Cirurgia para instalação dos 2 implantes: Os pacientes deverão tomar duas medicações preventivas, iniciadas 1 dia antes da cirurgia, que consiste em um antibiótico (amoxicilina 500mg de 8 em 8 horas durante 7 dias) e um antiinflamatório (paracetamol 750mg de 8 em 8 horas durante 5 dias). Os implantes utilizados serão o Standard Plus da Straumann® Dental Implant System, por ser um sistema de implantes bem documentado pela literatura especializada. A cirurgia será realizada na clínica do Departamento de Prótese da FOU SP com anestesia local.

Análise das bactérias: serão feitas 12 coletas de bactérias em torno dos implantes, 4 coletas no dia da cirurgia, 4 coletas após 45 dias e 4 coletas após 6 meses. Em todas estas ocasiões serão realizadas sempre uma coleta antes da aplicação do laser e uma após aplicação do laser. Para coletar as bactérias é utilizado 4 cones de papel estéril por um período de 20 segundos. Após este tempo os cones serão removidos e levados para análise no laboratório onde será contada a quantidade de bactérias presentes.

Aplicação do Laser: será feita sem apresentar qualquer desconforto para o paciente no dia da cirurgia e após 15, 30 e 45 dias pós cirurgico. Inicialmente a gengiva em torno dos implantes serão irrigadas continuamente com 3ml de solução de azul de metileno, um corante que irá pintar somente as bactérias, e após 5 minutos o laser será aplicado por 2 minutos. O corante será removido com irrigação de soro fisiológico estéril.

Análise clínica das condições a gengiva em torno dos implantes: serão avaliadas condições como a quantidade de placa bacteriana, sangramento da gengiva e recuo da gengiva. Estas avaliações serão realizadas após 6 semanas, 6 meses e 1 ano pós cirurgico.

Exame radiográfico: serão realizadas radiografias periapicais após a instalação dos implantes, após 6 semanas, 6 meses e 1 ano para avaliação da condição óssea.

Confeção das coroas (dentes sobre os implantes): coroas temporárias serão confeccionadas em resina acrílica e instaladas após 60 dias pós-cirurgia. As coroas definitivas, confeccionadas em metalo-cerâmica, serão instaladas após adequação do contorno gengival obtido com as coroas temporárias.

5. Riscos e benefícios

A pesquisa apresenta como risco os pertinentes a uma cirurgia oral menor, que serão devidamente controlados seguindo as recomendações pós cirúrgicas explicadas pelo profissional responsável.

Como benefício o paciente terá a reabilitação oral de dois dentes perdidos, por implantes osseointegrados, além dos benefícios apresentado pela PDT, como a redução do número de bactérias, sem promover resistência bacteriana, e favorecer a analgesia e cicatrização devido a característica de bioestimulação apresentado pelo Laser de baixa potência.

6. Informações adicionais

O voluntário tem garantia de que receberá resposta a qualquer pergunta e esclarecimento de dúvidas sobre os procedimentos, riscos, benefícios, etc., relacionados à pesquisa. Os pesquisadores anteriormente citados assumem o compromisso de proporcionar informações atualizadas obtidas durante o estudo, ainda que essas possam afetar a vontade do voluntário em continuar participando do trabalho. A não identificação do voluntário na publicação do trabalho será totalmente respeitada, caso ele assim o deseje.

Se houver dúvidas sobre a ética da pesquisa entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia (Av. Lineu Prestes 2227, 05508-000 Cidade Universitária São Paulo ou pelo site <http://www.fo.usp.br/portal/cep/default.aspx?menu=296&tipo=FALECONOSCO>)

7. Obrigações

Cooperação e sinceridade para que os dados obtidos não comprometam os resultados da pesquisa, dentro da proposta de trabalho elaborada. Qualquer tratamento médico/odontológico ao qual o paciente realize ou venha a realizar deverá ser notificado ao pesquisador, para que esse último possa avaliar uma possível influência nos dados da pesquisa. Os resultados do estudo não são apenas de responsabilidade dos pesquisadores, mas de todos os envolvidos no trabalho.

8. Retirada do Consentimento

APÊNDICE D - Tabela com a distribuição dos sujeitos de pesquisa, gênero, idade, posição dos implantes e implante instalado.

Paciente	Sexo	Idade	Região das cirurgias	Implantes Instalados (diâmetro do implante x comprimento x diâmetro da plataforma em mm)
1	F	48	16 e 26	4,1x10x4,8 e 4,1x10x4,8
2	M	39	14 e 24	3,3x8x4,8 e 3,3x10x4,8
3	F	41	14 e 26	3,3x10x4,8 e 4,1x8x4,8
4	F	37	14 e 25	4,1x10x4,8 e 4,1x10x4,8
5	M	54	14 e 17	4,1x10x4,8 e 4,1x12x4,8
6	M	54	16 e 26	3,3x10x4,8 e 4,1x10x4,8
7	F	45	14 e 25	3,3x12x3,5 e 3,3x12x3,5
8	M	45	14 e 25	4,1x8x4,8 e 4,1x10x4,8
9	F	58	15 e 25	4,1x10x4,8 e 4,1x10x4,8
10	F	47	14 e 26	3,3x10x4,8 e 4,1x8x4,8
11	M	39	16 e 13	4,1x10x4,8 e 3,3x10x4,8
12	M	45	16 e 26	4,1x8x4,8 e 4,1x10x4,8
13	M	41	14 e 25	3,3x10x4,8 e 4,1x10x4,8
14	F	44	16 e 26	3,3x12x3,5 e 3,3x12x3,5
15	F	55	16 e 26	4,1x10x4,8 e 4,1x8x4,8
16	F	40	16 e 26	4,1x10x4,8 e 4,1x10x4,8
17	F	54	16 e 26	3,3x8x4,8 e 3,3x10x4,8
18	F	41	15 e 25	3,3x10x3,5 e 3,3x10x3,5
19	F	42	14 e 25	4,1x10x4,8 e 4,1x10x4,8
20	M	51	16 e 26	4,1x8x4,8 e 4,1x10x4,8

APÊNDICE D - Geração do plano de randomização, realizada no site:

<http://www.randomization.com>. Antes da geração estipulou-se que o primeiro representaria o implante mais a direita do paciente e o segundo o outro implante

Paciente	Direita	Esquerda
01	Controle	Laser
02	Controle	Laser
03	Laser	Controle
04	Controle	Laser
05	Laser	Controle
06	Controle	Laser
07	Laser	Controle
08	Laser	Controle
09	Controle	Laser
10	Controle	Laser
11	Laser	Controle
12	Controle	Laser
13	Controle	Laser
14	Controle	Laser
15	Laser	Controle
16	Controle	Laser
17	Controle	Laser
18	Controle	Laser
19	Controle	Laser
20	Controle	Laser

Para realizar a reprodução basta reproduzir as informações abaixo no site acima mencionado.

20 subjects randomized into 1 block

To reproduce this plan, use the seed 20054